

**DE WERKING
VAN GENEESMIDDELEN OP
CULTUREN VAN AMOEBEN**

Line Medical Library

DE WERKING VAN GENEESMIDDELEN OP CULTUREN VAN AMOE BEN



ACADEMISCH PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR
IN DE GENEESKUNDE AAN DE UNIVERSITEIT VAN
AMSTERDAM, OP GEZAG VAN DEN RECTOR
MAGNIFICUS Dr. R. C. BOER, HOOGLEERAAR IN
DE FACULTEIT DER LETTEREN EN WIJSBEGEERTE
IN HET OPENBAAR TE VERDEDIGEN IN DE AULA
DER UNIVERSITEIT OP DONDERDAG 26 JUNI 1924
DES NAMIDDAGS TE 3 UUR DOOR

SIMON POSTMUS Jr.

GEBOREN TE AMSTERDAM



AMSTERDAM ~ 1924 ~ DRUKKERIJ „SYSTEMA“

*Aan mijn Ouders en
aan mijn aanstaande
Vrouw*

RECEPTIE NA AFLOOP DER PROMOTIE
IN HET UNIVERSITEITSGEBOUW

STELLINGEN

1.

De behandeling der Subcapitale Dyhalsfracturen door middel van beentransplantatie geeft de beste resultaten.

2.

De heterochromosomentheorie alléén is onvoldoende om de verschijnselen der geslachtsbepaling te verklaren.

3.

In gevallen van abortus incompletus diene men de digitale behandeling boven de instrumenteele te verkiezen.

4.

De artikelen 13 tot 16 van het ontwerp - wet op de besmettelijke ziekten, betreffende de gemoedsbezwaren tegen de vaccinatie, zijn, als gevaarlijk voor de volksgezondheid, te verwerpen.

5.

De kleurindex van het bloed kan men bepalen door het aantal der roode bloedlichaampjes met hun volumen te vergelijken.

6.

Röntgen-bestraling is bij gevallen van tuberculeuze lymphonen sterk aan te raden.

7.

De mechanische verklaring der Orthostatische Albuminurie is niet voldoende.

8.

De behandeling der multiële Sclerose met Zilver-salvar-san verdient meerdere toepassing.

9.

De Geneeskundige voorziening in Nederlandsch - Indië is een sociaal vraagstuk, welks oplossing dient te worden gedacht in de spoedige inrichting van medisch Hooger Onderwijs.



Het beëindigen van mijn studie geeft mij een welkome gelegenheid, U, Hooggeleeraren der Medische en Natuurfilosofische faculteit van Amsterdam mijn dank te betuigen voor al het geen gij tot mijne vorming hebt bij gedragen.

In de eerste plaats, dank ik, U, Hooggeleerde Kuenen, Hooggeachte Promotor, niet alleen voor uw welwillende hulp, die gij mij dagelijks bij de bewerking van mijn proefschrift hebt geboden, maar niet minder daarvoor, dat gij als mijn promotor hebt willen optreden, terwijl ik mijn practische studie nog niet voltooid had.

Hooggeleerde van Loghem, gij zijt degene geweest, die 't pad tot mijn promotie voor mij geëffend hebt, de herinnering aan dat feit zal mij nog steeds dankbaar stemmen jegens U.

Hooggeleerde van Rees, ook U ben ik veel dank verschuldigd. Dat ik een jaar als uw assistent heb mogen doorbrengen op uw laboratorium is mij een groot voorrecht geweest.

U, Hooggeleerde Lanz, dank ik voor de hulp, die ik niet alleen tijdens, doch ook na mijn studietijd, van U mocht ontvangen.

Ook, U, hooggeleerde Ruitinga en Hooggeleerde de Vries wil ik hier in het bijzonder danken voor het vele, dat ik op uwe colleges mocht leeren en daarbij uiting geven aan de eerbied, die uw kennis mij afdwong. Ge leerdet mij nauwkeurig toezien en precies weer geven van wat werd waargenomen.

Ook, U, wil ik danken, hooggeleerde van der Wielen en hooggeachte, zeer geleerde, Keulemans voor de wetenschappelijke en daadwerkelijke hulp, die ik van U heb mogen ondervinden.

Een woord van hartelijken dank geldt in het bijzonder, U, hooggeachte Mevrouw Voogd—van Kleeff, voor uw groote hulpvaardigheid en ook U allen, die mij tijdens mijn verblijf op het instituut voor Tropische Hygiëne steeds hebt willen helpen.

Ten slotte een woord van eerbiedigen dank aan mijn ouders, die mij in staat hebben gesteld te studeeren en haar, die mij bij de bewerking van mijn proefschrift steeds zoo trouw heeft bijgestaan.

DE WERKING VAN GENEESMIDDELEN OP CULTUREN VAN AMOELEN.

Inleiding.

Tot heden is de vraag, op welke wijze de geneesmiddelen, die in de kliniek tegen amoebiasis worden toegepast, hun werking uitoefenen nog niet tot oplossing gebracht.

Wil men dit nagaan, dan zou het aangewezen zijn, uit te gaan van culturen van pathogene amoelen, om daarop de werking te bepalen.

Daar het evenwel nog niet gelukt is de pathogene amoelen in kweek te brengen, is het noodzakelijk uit te gaan van culturen van z.g. wilde amoelen.

De bestudeering van dit onderwerp is juist van belang, omdat het vaststellen van de doodelijke dosis van het emetine voor de gekweekte wilde amoelen, aanleiding gaf tot het invoeren van het emetine als geneesmiddel tegen Amoelen-dysenterie.

Ondanks de schitterende werking van het emetine bij acute Amoelen-dysenterie heeft de therapie met emetine toch zóóveel teleurstelling gegeven, dat men tot het aanwenden van andere geneesmiddelen is overgegaan.

Het doel van dit proefschrift is na te gaan of er eenig verband bestaat tusschen de inwerking der verschillende geneesmiddelen, die nu in gebruik zijn in de kliniek en de werking op de culturen van niet pathogene amoelen.

GESCHIEDKUNDIG OVERZICHT.

Vedder is de eigenlijke grondlegger geweest van deze methode van werken.

In de mededeelingen van de Far East Assoc. Trop. Med. Transactions Second Biannual Congress te Hongkong 1912 lezen we, dat Vedders doel was, in de eerste plaats om na te gaan of ipecacuanha bactericiëde werking had op *B. Dysenteriae*. Oplossingen van 2 % werkten remmend op culturen van *B. Dysenteriae*; *B. Typhosus*; *B. Paratyphosus* en *Staphylococcus aureus*.

In een oplossing van 1 % groeide de *B. Dysenteriae* naar hartelust.

In de tweede plaats entte Vedder zijn culturen van wilde amoeben in een 5 % oplossing van bouillon, waaraan hij zijn ipecacuanha oplossingen toevoegde en liet deze gedurende 24, 48 en 72 uur inwerken. Zijn verdunningen waren bijzonder hoog, want een oplossing van ipecacac. 1 op 20.000 bevat niet meer dan 1 op 1.000.000 van de ipecac. alkaloiden: emetine en cephaeline.

Bij deze proeven bleek hem, dat ipecac. oplossingen van 1 op 10.000 en 1 op 50.000 voldoende waren om de amoeben te doden. Hij gebruikte 4 verschillende extracten van ipecac., Ipecac. zonder emetine had geen amoeben dodenden invloed.

Daarna ging hij na welke alkaloiden amoebociede eigenschappen bezaten. Emetinezouten doodden de amoebenculturen in verdunningen van 1 op 100.000, zoo ook cephaeline in dezelfde verdunningen.

Vedder besluit zijn mededeelingen met de woorden: „Further experiments are in progress and if these show that emetine has no marked emetic and depressing action and a constantly high amoebocidal action we have a drug which may prove as active against amoebic dysentery as quinine against malaria.”

I.

Rogers was de eerste, die, aangespoord door het werk van Vedder, Hydrochloras emetini op lijders aan amoeben-dysenterie toepaste.

In zijn „The Bowel Diseases in the Tropics” laat hij zich als volgt uit: „In 1911 Vedder recorded his wellknown experiment on the lethal action of emetine salts on non-pathogenic amoebae, which alone can be cultivated and effectively used for this purpose and the writer (Rogers h.l.) having been disappointed with the results of large doses of ipecacuanha in the very serious class of amoebic dysenteries admitted to his wards in Calcutta, early in 1912 commenced the hypodermic use of emetine hydrochloride in severe amoebic dysentery and hepatitis, with such striking results that it at once took its place as a specific remedy for amoebic disease.”

Rogers beschouwde dus, op grond van zijn klinische ervaring, het emetine als een specificum tegen Amoeben-dysenterie.

Tevens heeft hij getracht de werking van het geneesmiddel te verklaren door de onmiddellijke werking van hooge verdunningen van het Emetine op dysenterie amoeben in vitro na te gaan.

In Brit. Med. Journal 1912 p. 1424 vinden we verslag van zijn proefnemingen op *A. Histolytica*, geïsoleerd uit de faeces van dysenterie-lijders. Hij vond, dat in een stukje slijm met talrijk actief beweeglijke amoeben blootgesteld aan een oplossing van 1 op 10.000 emetine onmiddellijk de amoeben stierven. In een oplossing van 1 op 100.000 waren zij na enkele uren inactief of schijnbaar dood.

Op grond van zijn onderzoekingen, meent Rogers de geneeskrachtige werking van het subcutaan ingespoten emetine te mogen verklaren door een onmiddellijke inwerking van het vergif op de in de weefsels doorgedrongen dysenterie-Amoeben.

Het verdere onderzoek, omtrent dit vraagstuk beweegt zich in twee richtingen:

éénzijdig: de navolgers van **Rogers**, de werking op entamoeba hystolitica afkomstig van zieke menschen of kunstmatig ziek gemaakte dieren onderzoeken;

anderzijds: de navolgers van **Vedder**, die met culturen van wilde amoeben werken.

Voor een duidelijk overzicht is het, het beste, beide richtingen afzonderlijk te bespreken.

II.

Rogers maakte scheiding tusschen dood en leven der Amoeben op grond van het verlies van lichtbrekend vermogen en bewegelijkheid. Hierbij loopt hij grooten kans om verschillende Amoeben dood te noemen, die dit niet zijn. (Iets soortgelijks bij wilde Amoeben vonden Walters Baker en Koch).

Het was daarom een groote stap vooruit, toen **Kuenen en Swellengrebel** een nieuwe methode aangaven. (Central Blatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. 71 Band 1913. Pag 378. Die Entamöben des Menschen und ihre praktische Bedeutung.)

Zij gingen uit van het feit, dat levende weefsels sommige kleurstoffen niet opnemen, terwijl doode weefsels dat wel doen.

Amoebenhoudend materiaal wordt op een objectglas met een druppel van een 2 % oplossing van eosine gemengd en onder een dekglas met het mikroskoop bekeken. De levende protozoën, zoowel de vegetatieve vormen als hunne cysten, nemen geen kleurstof op en geven dus, indien het laagje materiaal dun genoeg is, het beeld van witte, bij amoeben beweeglijke, plekje's op rooden achtergrond.

De doode amoeben, daarentegen, door de eosine geïmpregneerd, doen zich voor als roode vlekken.

Men zal inzien hoezeer deze eosine methode het constateeren van den dood der amoeben bij proefnemingen als die van Rogers vergemakkelijkte.

Kuenen en Swellengrebel verkregen met hunne methode de volgende resultaten:

De histolytica-vormen uit versch gedeponeerde faeces werden in een oplossing van 1 op 10.000 emetine na 1 uur gedood.

Werden de faeces langer bewaard b.v. 7 uur, dan werkte deze oplossing reeds na eenige minuten doodelijk.

In een ander geval werden amoebae histolyticae uit versche faeces geïsoleerd, met een oplossing van 1 op 10.000 emetine al na enkele minuten gedood.

De minuta-vorm bleek hen veel resistenter te zijn tegenover emetine.

Na een verblijf van 45 minuten in een oplossing van 1 op 10.000 emetine waren de amoeben nog voor een groot deel beweegelijk, na drie uur was er geen één meer beweegelijk, doch slechts een enkele was gekleurd met eosine.

Pas na 24 uur waren ze allen dood.

Een andere keer waren na 4 uur de minuta's in een oplossing van 1 op 5000 nog beweegelijk, ja zelfs na 24 en na 48 uur namen zij nog eenige niet gekeurde amoeben waar. Tweekernige tetragena cysten, 24 uur na het deponeeren der faeces, blootgesteld aan een oplossing van emetine 1 op 100.000 waren na 10 min. van 53 cysten 4 gestorven

na 45 " " 51 " 19 "

na 3 uur " 58 " 20 "

na 24 " " 51 " 12 "

In een ander geval waren bij een emetine-oplossing van:

1 op 100 na een $\frac{1}{2}$ uur van 57 cysten 44 gestorven.

1 op 1000 " " $\frac{1}{2}$ " " 55 " 34 "

1 op 10.000 " " $\frac{1}{2}$ " " 50 " 37 "

Hieruit blijkt wel, dat de cysten tegen emetine zeer resistent zijn, zelfs tegen concentraties, die 10 of 100 maal

sterker zijn, dan de oplossingen, die Rogers aangegeven heeft.

Kuene en Swellengrebel concludeeren, dat bij de gewone, therapeutische, dosis alleen de Histolytica vormen der Dysenterie-amoeben voor de emetine inwerking toegankelijk zijn.

De ervaring, dat patiënten met minuta vormen en cysten in de faeces met emetine injecties niet van hun amoeben kunnen worden bevrijd, wijten zij voor een gedeelte althans, aan de mindere gevoeligheid der minuta-vormen tegenover het vergif.

Het zou volgens hen dan ook geen nut hebben, om de patiënten met minuta vormen aan een emetine kuur te onderwerpen, teneinde ze zoo van hun parasieten te bevrijden.

III.

Een vernuftige methode om *a. histolyticae* van gelijke vitaliteit te verkrijgen bedachten **Dale en Dobbell**, (J. of Pharmacology and Exp. Therapy 1917, X p. 399.):

„The Therapeutics of Amoebic Dysentery”. Zij infecteerden daarvoor jonge katten met amoeben van dysenterielijders afkomstig, ook probeerden ze dat bij apen en bij cavia's, doch met minder goed resultaat.

Zij verwierpen de methode van Rogers, die onder het mikroskoop naging, hoe lang het duurde, eer amoeben, ingesloten in een vlokje slijm, onder inwerking van emetine zich gingen afronden en hun bewegingen staken.

Immers in zoo'n slijmvlok verkeeren de amoeben in allerlei stadia van levensvatbaarheid, sommigen bereikbaar, anderen niet bereikbaar voor de inwerking der vergiften, sommigen zichtbaar, anderen onzichtbaar.

Hierin lag volgens hen een groote bron van fouten.

Zij meenden, dat de amoeben dood waren, wanneer zij hun bewegingen eenigen tijd hadden gestaakt, opgezwollen

door imbibitie met onduidelijk zichtbare kern. Hun Amoebenhoudend materiaal verkregen zij niet door ze te isoleeren uit de faeces van patienten, doch van versch verkregen afschraapsel uit de intestina hunner proefkatjes. Wanneer de amoeben gezond bleken en actieve bewegelijkheid vertoonden, dan werd een serie van proefbuisjes gemaakt, door in ieder buisje met een afgemeten hoeveelheid oplossing van het te onderzoeken geneesmiddel in physiologische NaCl-oplossing, een bepaalde hoeveelheid amoeben houdende stof te mengen.

Op bepaalde tijden onderzochten zij den inhoud der buisjes in den hangenden druppel op de verwarmde objecttafel.

Daar hun resultaten sterk afweken van die van Rogers vroegen zij zich af of dit verschil dááaraan, geweten kon worden, dat amoeben, afkomstig van katten, minder gevoelig zouden zijn voor emetine dan die van menschen afkomstig.

Zij herhaalden daarom hun proeven met histolytica van menschen afkomstig, maar verkregen hetzelfde resultaat als bij hun proeven op kattenhistolytica.

Hier volgt een van hun uitgebreide verslagen.

6 uur n.m. de amoeben in een oplossing van 1 op 1000 geplaatst, zoo ook in een opl. van 1 op 10.000 en 1 op 100.000 emetine.

6.15 uur n.m. de amoeben in de opl. 1 op 1000 zijn practisch alle dood. Velen zijn opgezwollen met duidelijk zichtbare kern. Geen een kruipt meer rond, slechts enkele trachten vruchteloos hun pseudopodien uit te steken. Eén amoebe stak een lang helder pseudopodium uit en barstte.

6.30 uur n.m. De amoeben in de opl. 1 op 100.000 en 1 op 10.000 vertoonen geen verschil met de amoeben in de controlebuizen.

6.55 uur n.m. In de opl. 1 op 1000 zijn alle amoeben in ontbinding overgegaan; een enkele, die nog te ontdekken is, is dood.

7 uur n.m. De buisjes met de opl. 1 op 100.000 op 1 op 10.000 vertoonen talrijke actief bewegende amoeben met enkele dooden.

Ze zijn niet opvallend verschillend van de controle-emulsie.

Steeds vindt men in hun protocollen, dat de amoeben in de oplossingen 1 op 10.000 en 1 op 100.000 zich haast gelijk gedragen als in de controle-buisjes.

Dale en Dobell meenen dan ook terecht te mogen zeggen, dat de inzichten van Rogers verkeerd zijn en op grond daarvan veronderstellen zij, dat de amoeben, die Rogers gebruikte, reeds zóó verzwakt waren, dat zij suc-combeerden in oplossingen, die onschadelijk waren voor amoeben met grooter vitaliteit.

Verder gaande scheen het hun waarschijnlijk toe, dat de verklaring van het therapeutisch effect van emetine op de basis van zulk een inwerking, als het vertoont op geïsoleerde amoeben, dán alleen toelaatbaar is, wanneer aangetoond kan worden, dat andere alkaloiden, die geen specifieke werking hebben bij amoeben-dysenterie, een minder krachtige werking vertoonen op amoeben in vitro.

Bij de proeven hierover bleek, dat kinine o.a. hoewel het minder werking heeft in de kliniek, toch op amoeben in vitro een krachtiger werking vertoonde. dan emetine.

Ja zelfs, een middel, dat chemisch nog veel dichter staat bij emetine, n.m. methylpsychotrine hetgeen slechts twee waterstof-atomen van emetine verschilt, werkt absoluut niet bij een menschelijke infectie en is in vitro amoeben-doodend.

Uit hun proefnemingen besluiten zij, dat het emetine in de groote verdunning, waarin het bij den mensch na subcutane injectie voorkomt, niet in staat is dysenterie-amoeben te dooden. Zij verlaten dus volkomen het denkbeeld van Rogers en Vedder, die de geneeskracht van het emetine aan een onmiddellijk doodende werking toeschrijven. Tot staving van hun meening wijzen zij er op, dat emetine en

cephaeline, die sterk irriteerend op den darm inwerken in de kliniek krachtig werkzaam zijn, terwijl zij in vitro minder doodend voor de amoeben zijn, dan het Psychotrine, dat weinig of niet prikkelend op den darm blijkt te zijn. De aard van de inwerking op het darmslijmvlies bepaalt dus het therapeutisch effect, niet, de amoebociede kracht.

Terwijl de onschuldige darmamoeben als de *E. coli* en de *E. nana*, in den darminhoud leven en zich vermenigvuldigen, moet de *Entam. histolytica* het darmslijmvlies van den gastheer doorboren om in het leven te blijven.

Het therapeutisch effect der emetine-injecties bij Amoebiasis moet volgens Dale en Dobell worden verklaard uit het feit, dat emetine, door zijne prikkelende werking het slijmvlies tot krachtiger verweer tegenover den indringer aanzet.

IV.

De resultaten der latere onderzoeken van **Wenyon** en **O Connor** vindt men in hun monografie: „Human Intestinal Protozoa in the Near East.” 1917.

Hierin beschouwen zij dit vraagstuk meer van de klinische zijde.

Voor het hier behandelde vraagstuk zijn hunne hier volgende waarnemingen van belang.

Zij vermelden, daarin hun waarneming, dat er meerdere minuten moesten verloopen, voordat amoeben, (in pus levende) in een oplossing van $6\frac{1}{2}$ ‰ emetine, afstierven.

Oplossingen van 1 op 200 emetine waren niet in staat cysten van *entam. Histolytica* te doen sterven in één uur (gelijke deelen 1 op 100 em. en faecesemuls). Jazelfs na 9 uren waren niet eens alle cysten dood.

V.

Bij al deze verslagen van experimenten bemerkt men steeds de groote moeilijkheid om een juiste scheidingslijn te vinden tusschen leven en dood der amoeben.

Geheel hiervan doordrongen publiceerde **William Allan** in de J. of Ph. and Exp. Th. XVI 16 Aug. 1920 p. 20-29.

„The effect of emetine on *E. amoeba Histolytica*”.

Hij heeft zijn moeilijkheden in vijf stellingen neergelegd.

1ste. De *E. amoeba histolytica* sterft tamelijk snel na het verlaten van het lichaam v. d. patiënt, zoodat het element tijd, dat zoo belangrijk is bij de werking van emetine niet zuiver in rekening kan worden gebracht.

2de. De dood of het moment van het intreden van den dood van het organisme is, zonder meer, lastig te determineren.

3de. *E. amoeba histolytica* is niet te kweken.

4de. Het alkaloïed kan met andere organische stoffen verbindingen aangaan en zóó niet meer actief werken.

5de. *E. amoebae*, die in het slijm vast zitten, zijn goed beveiligd tegen oplossingen van emetine.

Allan heeft nauwkeurig de veranderingen gadeslagen, die in de amoeben optreden, wanneer men deze blootstelt aan de inwerking van emetine.

De organismen onderhouden hun actieve beweeglijkheid gedurende ongeveer 10 tot 15 minuten, worden daarna rustig en ronden zich af.

Eenigen tijd daarna, gaan de granulaire deelen en de kern zich terug trekken naar één kant van het amoebenlichaam en bakken daar als het ware samen, zóó dat zij een vierde of een vijfde gedeelte van het geheele volumen van de cel innemen, terwijl de rest van de cel helder en homogeen is met de normale lichtbreking van het ectoplasma.

Tegelijkertijd schijnt de cel eenigszins op te zwellen, terwijl men half cirkelvormige golven kan zien voorbijtrek-

ken van de periferie van de cel naar de periferie van de granulaire massa, die aan één kant van de celomtrek gelegen is.

In de groote meerderheid der gevallen begint na 10 tot 15 minuten de granulaire inhoud meer verdeeld te geraken over de geheele cel, zoodat er geen heldere randzône meer over blijft en de lichtbreking begint te verdwijnen.

Na enkele minuten is er lichte beweging van het organisme waarneembaar, net alsof het om zijn as wilde draaien, doch het ectoplasma wordt niet uitgestulpt.

Vlak na deze beweging breekt de periferie op één plaats en een deel van de granulaire massa vloeit uit de cel, terstond breekt dan de periferie totaal, de geheele celgrens verdwijnt en van lichtbrekend vermogen is geen sprake meer.

Dit breken aan de periferie kan achterwege blijven, wel verliest de cel dan zijn lichtbrekend vermogen, waarna men geenerlei verschil ziet tusschen endoplasma en ectoplasma.

Men kan zeer veel tusschenvormen waarnemen al naarmate men met sterkere of minder sterke emetine oplossingen werkt.

In zijn conclusie vermeldt Allan, dat bij het gebruik van emetine voor *E. amoebe histolytica*, emetine in oplossingen slapper dan 1 op 2000 gedurende 1 tot 2 uur in geen geval het voorkomen of de motiliteit van deze organismen in de faeces beïnvloedt. Vaak gebeurde het volgens Allan, dat oplossingen van 1 op 150 de amoeben niet vermochten te doden in eenzelfde tijdsbestek.

Bleek uit het bovenstaande al sterk de invloed van Dale en Dobell's gedachtengang op Allan, nog sterker zou dat blijken uit zijn publicatie van 1922 in „The American Journal of Trop. Medicine” Vol. 2 over: „The Effect of emetinised blood and serum from man and cat on pathogenic *Entamoebae* in stools”.

Immers Dale en Dobbell beweerden in 1916, dat de

emetinewerking berustte op het ontstaan van zekere tusschenstof in het bloed van den hospes.

Allan probeerde op twee manieren deze tusschenstof in vitro te verkrijgen.

In de eerste plaats mengde hij emetine met bloed en serum van mensch en kat, en in de tweede plaats spoot hij bij den mensch en den kat een therapeutische dosis emetine in.

Nadat het emetine opgenomen was onttrok hij het bloed en stelde daaraan de pathogene amoeben uit de faeces bloot.

Een andere hoeveelheid bloed, die hij aan zijn proefpersonen ontnam, werd met een gelijke hoeveelheid van een vier procents oplossing van citraskalicus vermengd en daarin werd hydrochloras emetini opgelost tot een verduunning van 1 op 500.

Het serum werd verwerkt tot een oplossing van 1 op 200 emetine.

Gelijke hoeveelheden emetinebloedmengsel en amoeben bevattend materiaal werden samengebracht om onder het microscoop bekeken te worden.

Op dezelfde manier behandelde hij ook het bloed van katten. Zoo werkende, komt hij tot de conclusie, dat bloed, aan menschen of katten onttrokken, met citraskalicus behandeld, samen met de therapeutische dosis emetine geen effect heeft op E. amoeben in de faeces gedurende een uur.

De Amoeben doodende stof, die volgens Dale en Dobell in het lichaam van den mensch onder invloed van het emetine zou ontstaan, kon dus in het bloedserum niet worden aangetoond.

Zij, die de **proeven van Vedder** op kweekbare amoeben hebben nagegaan, zijn minder in aantal en hun resultaten loopten minder sterk uiteen als die van hen, die Rogers' methode volgden.

I.

In 1912 vermeldt **Wherry** in de „Journal of Infectious Diseases" het volgende:

Hij ging na de werking van emetine op wateramoeben, die symbiotisch leefden, met bacteriën. Daarbij kwam hij tot de conclusie, dat oplossingen van emetine 1 op 20.000; 1 op 100.000 en 1 op 200.000 de amoeben wel doodden na 23 uur en 30 minuten, maar niet in één uur.

II.

Uitgaande van de mogelijkheid, dat sommige derivaten van emetine of van de andere alkaloïeden en ipecacuanha een grotere toxische werking zouden hebben op de amoeben dan de oorspronkelijke stof, hebben **F. L. Pyman** en **C. M. Wenyon** (van The Wellcome Bureau Scientific Research) deze werking nagegaan. (Journal of Pharmacology. Vol. X P. 237, 1917.)

Naast zeven minder bekende alkaloïeden vergeleken zij de werking van hydrochloras emetini met die van hydrochloras cephaelini en die van sulfas psychotriini.

De amoeben doodende werking hiervan werd nagegaan door deze stoffen op te lossen in water en deze oplossingen in de voedingsbodems, waarop de amoeben groeiden, in te smelten. Deze voedingsbodem was Walker Agar, waarop de amoeben overvloedig groeiden. (De amoeben behoorden tot de *Limax* groep).

Drie oplossingen werden gebruikt n.l.: 1 op 1000, 1 op 10.000 en 1 op 100.000. Ze veronderstelden daarbij, dat de amoeben, die op het vochtige oppervlak van de agar groeiden evengoed, in dezelfde verdunning, onder den invloed van deze stoffen zouden komen.

Dat kon alleen wáár zijn, indien de dunne laag vocht aan de oppervlakte van de agar dezelfde hoeveelheid van de geneesmiddelen bevatte als de massa eronder.

De zouten van emetine en cephaeline doodden de amoeben bijna even sterk, terwijl sulfas psychotriini dat in veel mindere mate deed. Pyman en Wenyon trachtten dat in verband te brengen met de chemische samenstelling van deze stoffen.

De drie alkaloïeden, emetine cephaeline en psychotrine, die steeds in ipecacuanha aanwezig zijn, zijn nauw aan elkaar verwant. De samenstelling van de kern was hen onbekend.

EMETINE	heeft de formule:	$C_{25} H_{27}$	$\begin{matrix} (OCH_3)_4 \\ NH \\ N \end{matrix}$
CEPHAELINE	" " "	$C_{25} H_{27}$	$\begin{matrix} (OCH_3)_3 \\ OH \\ NH \\ N \end{matrix}$
PSYCHOTRINE	" " "	$C_{25} H_{25}$	$\begin{matrix} (OCH_3)_3 \\ OH \\ NH \\ N \end{matrix}$

Emetine is de O-methylester van cephaeline en bevat vier OCH_3 groepen, maar geen phenolhydroxylgroepen. Allen bevatten ze een tertiair en een secundair N-atoom. Psychotrine bevat een phenolhydroxylgroep en drie OCH_3 groepen, het bevat dezelfde kern als de andere alkaloïeden doch in een niet volkomen gereduceerde vorm.

Het heeft 2 waterstofatomen minder dan cephaeline en kan daarin overgaan door reductie. Het verschil in amoebendoodende eigenschappen tusschen deze twee basen is zeer opvallend want cephaeline heeft de krachtigste werking en psychotrine de zwakste van alle 10 onderzochte alkaloïeden. Deze proeven zijn dáárom juist zoo belangrijk, omdat als kenteekeken voor den dood van de amoeben de eosine methode van Kuenen en Swellengrebel is toegepast.

In hun culturen namen zij twee groeifactoren waar n.l. **A**, de factor der amoebengroei en **B**, die der bij behorende bacteriën.

Onderzochte stof	VERDUNNING					
	1 op 1000		1 op 10.000		1 op 100.000	
	Bact.	Am.	Bact.	Am.	Bact.	Am.
Emetine HCl	1	—	2	—	3	1
Cephaeline HCl	1	—	2	—	3	1
Psychotrine SO ₄	3	3	2	3	3	3
Contrôle	3	3	3	3	3	3
Dagen v. groei	5		5		5	

De cijfers duiden aan in hoeverre de groei zich over het agar oppervlak had uitgebreid.

Bij nauwkeurige vergelijking van de proeven van Pyman en Wenyon met die van Vedder valt het volgende verschil op. Vedder gaat na het gedrag van de gekweekte amoeben onder invloed van de werking der toegevoegde vergiften. Pyman en Wenyon gaan de snelheid van groei der amoeben na op een min of meer vergiftigden voedingsbodem. Zij voeren dus een nieuwe methode ter beoordeeling der werking van de vergiften in.

III.

In de voetsporen van Vedder tredend, onderzochten A. L. Walters, W. F. Baker en E. W. Koch de amoebendoodende werking van de ipecacuanha alkaloïden en van eenige synthetische derivaten. (J. of Pharm. 1917. X p. 341.) Zij kweekten hun amoeben op agarplaten van de volgende samenstelling: 20 gram agar 3 gram NA² CO³, drie gram vleeschextract en water tot 1000 c.c., dat alles werd 1 %

alkalisch gemaakt ten opzichte van phenolphthaleïne. Daarop groeiden de amoeben uitstekend. Hun amoeben verkregen zij van een laboratoriumcultuur. Een druppel geneesmiddelmengsel werd samengebracht met een druppel amoebensuspensie en deze onder het microscoop bekeken. Om uitdrogen te voorkomen werden de randen van het dekglasje met vaseline bestreken. De controleproeven werden met water vermengd. Zij meenden te kunnen constateeren, dat emetine en cephaeline en hun derivaten in oplossingen van 1 op 1000, 1 op 5000, 1 op 8000, en 1 op 10.000 en 1 op 12.000 wél vermochten een gedeelte der amoeben te doden, terwijl het bij de overige amoeben moeilijk was te constateeren of zij dood, in een rusttoestand, of in een resistentiestadium waren.

Oplossingen boven de 1 op 35.000 konden binnen 15 min de amoeben hun beweeglijkheid niet meer doen verliezen.

Zij vinden, dat de werking van de ipecacuanha alkaloïden op wateramoeben zeer sterk varieert. De eenige duidelijke aanwijzing voor den dood, is volgens hen, het proces der ontbinding (uiteenvallen), wat lang niet altijd voorkomt. Dit begint met verlies der bewegelijkheid en het aannemen van een ronden vorm. Gaandeweg zwelt het protoplasma op en spat uiteen, naar alle kanten. Andere amoeben, die niet barsten, kunnen grof gekorrelt worden. Daar dit in alle graden voorkwam, kon dit niet als indicatie van den dood worden aangenomen. Ze waren er niet zeker van of ze wel steeds met de zelfde **soort** amoeben werkten, hoewel ze morphologisch tot dezelfde soort behoorden, met uitzondering van één klein soort, dat meer resistent bleek. Eén ding heeft hen zeer sterk gefraspeerd bij al hun proeven, n.l. dat deze alkaloïden **langzaam** werken. Zij veroorzaken pas na twee of vier dagen den dood. Het amoeben doodend effect is uiterst langzaam, zoodat een zéér slappe verdunning in een langdurige inwerkingsperiode evenveel amoeben doodt, als een veel sterkere oplossing in een korte periode.

Zij deden ook proeven met de *E. amoeba buccalis* en vonden daarbij, dat emetine oplossingen 1 op 800 deze niet konden doden in twee uur, terwijl oplossingen van 1 op 400.000 na 6 uren inwerken amoebendoodend effect gaven. Hunne conclusies luiden op grond van deze proefnemingen als volgt; Hydrochloras emetini in oplossingen van 1 op 1000 gedurende 1 uur inwerkend, op water-amoeben of in oplossing 1 op 5000 gedurende 3 uur inwerkend, doodt wel veel van deze organismen, doch werkt niet specifiek amoebocied. Oplossingen van hydrochloras emetini 1 op 200.000 doodt gedurende 1, 4 of 7 uur veel amoeben, maar wordt er van deze amoeben geënt op verse agarplaten, dan ontwikkelt zich toch een amoebengroei, waaruit blijkt, dat nog niet alle amoeben waren afgestorven.

IV.

In 1922 verscheen in The British Medical Journal p. 993: „Observations on the amoebocidal action of Connessine by H. C. Brown.”

Hij ging uit van een laboratorium-cultuur van wilde amoeben, die gekweekt werd op een Walkar agar voedingsbodem. Bij zijn proefnemingen vermengde hij de geneesmiddelen in den voedingsbodem en daarbij nam hij waar, dat oplossingen van 1 op 1.000.000 connessine en ook oplossingen van emetine in dezelfde verdunningen de amoebengroei geheel uitsloten. Volgens Brown mag deze groeiremning niet in de eerste plaats geweten worden aan een berooving van voedsel, door de remming van den bacteriëngroei, want het bleek hem, dat de amoebengroei nog eerder beïnvloed wordt, dan dat er eenige verandering in de bacteriëngroei is opgetreden.

Om aan te toonen, dat de invloed van emetine en connessine niet zou veranderen bij hoge temperaturen, verhitte hij zijn oplossingen in een autoclaaf tot op 115 gr. gedu-

rende 20 minuten en zag daarvan geen invloed op de remming der groei.

Hij meent, dat deze soort vrij levende amoeben zeer gevoelig is voor de inwerking van alkaloïeden daarom vergelijkt hij de werking van connessine met die van kinine, hetgeen uit onderstaande tabel blijkt.

	Sulfas Connessini				Bihydrochlor. Chin.			
	0,1 %	0,01 %	0,001 %	0,0001 %	0,1 %	0,01 %	0,001 %	0,0001 %
Amoeben groei	0	0	0	++	0	+	+	+
Bacteriën groei	0	+	++	++	+	++	++	++

Ten slotte is hij het met Dale en Dobell in zoover eens, dat ook hij aanneemt, dat emetine geen **directe** amoebendoodende werking heeft. Om te zien of serum van een patient na injectie van groote doses emetine invloed had op vrijlevende amoeben, nam hij bloed van een patient, die 12 dag doses bismuth emetine had ontvangen.

Hij vermengde diens serum met wilde amoeben in physiol. zoutopl. gesuspendeerd, doch hij zag geen verschillen optreden met amoeben samengebracht met normaal-serum.

V.

In Januari 1923 verscheen in The Philippine Journal of Science Vol. 22 no. 1 pag. 1. „Investigations concerning the Treatment of amoebic Dysenterie" by Andrew Watson Sellards and Lamberto Leiva.

Uitgaande van het feit, dat de behandeling der amoebendysenterie nog zeer veel te wenschen overlaat, geven zij hier een uitgebreide studie over deze behandeling. Voor

ons van belang is het eerste deel „Experiments upon cultural Amoebae in vitro”.

Onderzocht werd de werking van emetine, kine, papaverine, en neo-salvarsan, terwijl ook nog eenige minder bekende geneesmiddelen werden onderzocht. De amoeben, die zij gebruikten, werden geïsoleerd uit de faeces van een gezond individu.

De amoeben behoorden tot het *Limax* type en werden op een gewone voedingsagar gekweekt te zamen met de bacteriën, die bij de eerste enting op de platen opkwamen. Pogingen om een culture pure mixte te verkrijgen hebben zij niet gedaan.

Zij maakten bij hun proeven gebruik van een vloeibaren voedingsbodem, die bestond uit 1 gram pepton, 1 gram KCl. en 1 gram lactose op 1000 c.c. water. De verschillende geneesmiddelen, die onderzocht werden, werden niet gesteriliseerd, hiermede vermengd. Op dit mengsel werden de amoeben geënt vanaf een vier en twintig uur oude cultuurplaat. Dit alles geschiedde bij een temperatuur van 37 gr. C. Dagelijks werden deze culturen gecontroleerd totdat alle amoeben zich geëncysteerd hadden. Hun resultaten hebben zij neergelegd in onderstaande tabel.

Onderzochte Geneesmiddel	Verdunning	Resultaat
Hydrochloras Emetini	1 op 100.000	alleen bact.
”	1 op 1.000.000	”
”	1 op 5.000.000	enkele am.
”	1 op 10.000.000	talrijke am.
”	1 op 50.000.000	”
Bi hydrochloras Chinini	1 op 100.000	enkele bact.
”	1 op 500.000	talrijke am.
Hydrochloras Papaverini	1 op 5000	alkal. slaat neer
”	1 op 10.000	alleen bact.
”	1 op 50.000	talrijke am.
”	1 op 100.000	”
Neosalvarsan	1 op 500	schaars bact.
”	1 op 1000	alleen bact.
”	1 op 5000	talrijke am.

Zij meenen dan ook met zekerheid te mogen beweren, dat Vedder's proeven volkomen bevestigd zijn. Het resultaat van de proeven met papaverine kan beïnvloed zijn door het feit, dat het neerslaat in sterke oplossing (1 op 5000). Oplossingen van neosalvarsan oxydeeren snel en bij kamertemperatuur ontstaan daarbij toxische verbindingen, dit zou naar hun meening de proefnemingen hiermede onbetrouwbaar kunnen maken. Daarom schudden zij gedurende 15 minuten een oplossing van neosalvarsan en lieten deze op hun culturen inwerken met precies hetzelfde resultaat, als zij verkregen met niet geschudde oplossingen.

In hun conclusies wijzen zij er terecht op, dat de resultaten verkregen op wilde amoeben niet zonder meer op histolytica amoeben van toepassing zijn, evenmin als farmacologische proeven op dieren genomen voor den mensch geldig mogen worden verklaard.

Korte Samenvatting.

Bij nauwkeurige beschouwing van het bovenstaande, kan men waarnemen, dat het onderzoek van Vedder aanleiding is geweest tot meerdere proefnemingen.

Deze proefnemingen hebben zich in 3 richtingen ontwikkeld.

1e. de methode volgens Rogers, d.i. het bepalen van de doodelijke werking van het emetine op entamoeba histolytica.

2e. de methode van Vedder, d.i. het bepalen van de directe doodelijk werkende dosis op wilde Amoeben.

3e. de methode van Pyman en Wenyon, d.i. het bepalen van den invloed van Emetine concentraties op den groei van Amoeben.

De onderzoekers, die de eerste methode volgden heb ik samengevat in dezen tabel.

TABEL V.

Naam v. d. onderzoeker	Soort amoebe	Concentratie v. h. Emetine	Duur van de in werking	Opmerkingen
Rogers	A. Histolytica (faeces) id.	1 op 10.000 1 op 100.000	onmiddellijk na enkele uren	doodende werking idem
Kuenen en Swellengrebel	id.	1 op 10.000	na 1 uur	steeds wisselende werking (eosine methode)
Minuta	1 op 10.000	1 op 1000	niet te bepalen	
Dale en Dobell	A. Histol. (katten) id.	1 op 1000	na 55 min.	
	id.	1 op 10.000	na 1 uur	geen invloed
Wenyon en O'Conner	id.	1 op 100.000	na 1 uur	geen invloed
	A. Histol. (faeces)	6½%	enkele minuten	
	Histol. cysten	1 op 200	9 uur	niet direct doodelijk
W. Allan	Histol. (faeces)	1 op 2000	na 2 uur	niet afdoende
	id.	1 op 150	na 1 à 2 uur	niet afdoende

Bij de beoordeeling der verschillende resultaten door de onderzoekers verkregen, moet men de volgende zaken in aanmerking nemen:

1e. Er bestaat geen eenheid in de methode om den dood der amoeben vast te stellen.

2e. De histolytica amoeben, geïsoleerd uit de faeces, zijn natuurlijk zeer wisselend in levensvatbaarheid hetgeen o.a. het groote verschil in de resultaten van Rogers tegenover die van Dale en Dobell en Allan zou kunnen verklaren.

3e. De amoeben zijn in de menschelijke faeces vaak ingehuld in slijm, waardoor het binnendringen der geneesmiddelen aanmerkelijk wordt bemoeilijkt.

Het eerste bezwaar kan worden omgaan door de eosine-methode toe te passen. De andere bezwaren zullen wel steeds moeilijkheden blijven geven, zoolang men de pathogene amoeben niet in cultuur heeft kunnen brengen.

De resultaten van hen, die de tweede methode volgden, vindt men in onderstaande tabel.

Methode Vedder.

Onderzoeker	Sterkte v. h. Emetine	Werkking	Soort Amoebe	Duur der werking	Doods kenmerken
Vedder	1 op 100.000	doodel.	wilde	24 uur	geen
Wherry	1 op 100.000	idem	idem	23½ uur	idem
	1 op 200.000	idem	idem	idem	idem
Walter, Baker en Koch	1 op 1000	bijna alle gestorv.	idem	1 uur	verlies v. bewegelijkheid, afronding en gemis v. lichtbrekend vermogen
	1 op 5000	idem	idem	3 uur	
	1 op 200.000	idem	idem	1 à 7 uur	idem

Ondanks veel moeite is het mij niet gelukt de oorspronkelijke publicaties van Vedder en Wherry in handen te krijgen. In de mij ten dienste staande referaten staat niet opgegeven, hoe de dood der amoeben werd vastgesteld. — Dit is wel van veel belang, daar de door hen opgegeven resultaten wijzen op betrekkelijk snel doodende werking in hooge verdunning, hetgeen andere onderzoekers niet konden vaststellen.

Ook de door Walters, Baker en Koch opgegeven resultaten zijn m.i. niet bewijzend, daar zij zelf toegeven, dat nog niet alle amoeben waren afgestorven.

Veel scherper zijn de uitkomsten van het onderzoek volgens de derde methode.

METHODE PYMAN en WENYON

Onderzoeker	Geneesmiddel	Concentratie	Groei der Am.	Duur der werking
Pyman en Wenyon	Emetine	1 op 1000	uitgesl.	5 dagen
	idem	1 op 10.000	idem	idem
	idem	1 op 100.000	geremd	idem
Brown	Connessine	1 op 100.000	uitgesl.	niet vermeld
	idem	1 op 1.000.000	geen invl.	idem
	Kinine	1 op 1000	uitgesl.	idem
	idem	1 op 10.000	geremd	idem
	idem	1 op 100.000	geen invl.	idem
	idem	1 op 1.000.000	geremd	idem
Sellards en Levia	Emetine	1 op 100.000	geremd	idem
	idem	1 op 100.000	uitgesl.	idem
	idem	1 op 1.000.000	idem	idem
	idem	1 op 5.000.000	geremd	idem
	idem	1 op 10.000.000	geen invl.	idem

Daar mijn eigen onderzoekingen voornamelijk volgens deze methode zijn verricht, wil ik de bespreking van deze opgaven in bovenstaande tabel uitstellen tot na de mededeeling van mijn eigen proefnemingen.

EIGEN ONDERZOEK.

Techniek.

De amoeben werden gekweekt uit de modder, die zich bevindt in den tuin van het laboratorium.

Van deze modder werden kluitjes ter grootte van 1 c.c. in kolfjes geplaatst, waarin resp. 50 c.c.: niet gealkaliseerd hooi-infuus, paardenfaecesdecoct, of peptonwater. Niettegenstaande deze kweekproeven herhaaldelijk gedaan zijn, is het nooit mogelijk geweest amoeben te vinden in de kolven met hooi-infuus en paardenfaecesdecoct. Vrij constant kwamen zij voor in de kolven met peptonwater. De cultures werden in de tropische kamer geplaatst, waar een temperatuur heerschte van 26 gr. C.

Na een verblijf aldaar van 2 dagen, vormde zich aan de oppervlakte van het peptonwater een vliesje, dit werd voorzichtig met een platinaoog verwijderd en op amoeben onderzocht. Werden er amoeben gevonden, dan werden de vliesjes zoo voorzichtig mogelijk overgebracht op Liebig's agarplaten, zoo ook op hooiagarplaten en Walker-agar platen.

(Hooi-agar: verkrijgt men aldus: 20 à 40 gr. hooi of stroo worden met 1 L. aq. comm. gedurende $\frac{1}{2}$ uur gekookt en gefiltreerd. Het filtraat wordt met Na^2CO licht alkalisch gemaakt, en afgefiltreerd, daarna wordt er $1\frac{1}{2}\%$ agar aan toegevoegd.)

Het is onmogelijk om de wilde Amoeben op 'n voedingsbodem te kweken buiten de aanwezigheid van bacteriën, die hen blijkbaar tot voedsel moeten dienen. De bedoeling hiervan is, een cultuur te verkrijgen, waarin naast de Amoeben geen andere protozoën voorkomen. Is men eenmaal zoover, dan tracht men de amoeben met een bepaalde soort van bacteriën te verkrijgen de z.g. „Culture pure mixte” van Mouton.

Men verkrijgt deze als volgt: Men ent het amoebenhoudend materiaal op een agarplaat. Protozoën en bacteriën verspreiden zich vanuit de plaats der enting over de plaat. Is de agar stijf genoeg, dan blijven de flagellaten weldra achter en met het mikroskoop kan men een plaats uitzoeken, waar men alleen de langs het oppervlak voortgekropen Amoeben waarneemt. Vandaar ent men op een tweede plaat en zoo steeds voortgaande, krijgt men de zekerheid, dat zich alleen Amoeben op de plaat bevinden.

Nu bezaait men de platen met de bacterie, waarmee men de amoebe in reïncultuur wenscht te verkrijgen. Na 24 uur wordt de plaat op een plek met de amoeben geënt, die zich over de plaat verspreiden. Door dit nu telkens te herhalen met de Amoeben, die na twee of drie etmalen het geheele agaroppervlak hebben overgroeid, zou het gelukken de reine gemengde culturen te verkrijgen, daar dan de andere bacteriën ten slotte worden achter gelaten.

Deze methode werd door mij gevolgd. De beschreven hooi-agar platen bleken daartoe ongeschikt, daar de flagellaten en andere protozoën in die dunne agar te welig groeiden en te snel vooruit kwamen.

Het beste voldeden de 2 % Liebigagar platen. ¹⁾ Ik trachtte op deze wijze de amoeben in gemengde reïnculturen te krijgen met *B. coli*, *B. typhosus* en *Vibrio Dunbar*.

Het bleek mij, dat mijne amoeben aanmerkelijk beter groeiden met *B. Coli* dan met andere bacteriën. Doch ondanks alle pogingen is het mij nooit gelukt een echte gemengde reïncultuur te verkrijgen. Steeds namen de Amoeben een bacterie mede, die in de oorspronkelijke peptonoplossing was gegroeid en die dus ten slotte op iedere plaat aanwezig bleek. — Deze omstandigheid bleef voor alle proeven dezelfde en kan dus geen invloed op de uitkomsten hebben gehad. —

¹⁾ Noot. Ook werd vaak gebruik gemaakt van een half verdunde 2% Liebig-Agar voedingsbodem d.w.z. alle ingredienten kwamen hierin voor op dezelfde hoeveelheid water doch in de helft der gebruikelijke concentratie. Op deze slappere agar-platen wilden de Amoeben beter groeien dan de bacteriën.

De door mij gekweekte Amoebe behoorde waarschijnlijk tot de groep Vahlkampfia.

Het was een middelmatig groote amoebe van het limax type. Er komen talrijke soorten in de natuur voor. Er is nog slechts weinig van deze amoeben met zekerheid bekend; een poging om de door mij gekweekte amoeben nader te classificeeren mag overbodig heeten. — Het is zeer wel mogelijk, dat verschillende onderzoekers met verschillende amoeben hebben gewerkt en dat dit invloed heeft gehad op de verkregen resultaten. —

Een onderlinge vergelijking der resultaten van de verschillende onderzoekers dient onder voorbehoud te geschieden. Toch is de overeenstemming dier resultaten in menig opzicht zóó groot, dat men mag aannemen, dat de gevolgde methodiek het recht geeft om tot bepaalde conclusies te komen.

Bij mijn proefnemingen werden drie methoden naast elkaar gebruikt.

Methodiek.

Methode A. De amoeben en bacteriën werden te zamen geënt in het condens-water van schuin gestelde agarbuisjes, waaraan het te onderzoeken middel in verschillende verhouding was toegevoegd. Op geregelde tijden werd de groei in condenswater en langs het agar oppervlak, waarlangs de Amoeben opkropen, nagegaan.

Methode B. Petrischalen werden gevuld met 9 c.c. Liebig-agar, waaraan 1 c.c. van het te onderzoeken middel in oplossing werd toegevoegd. Na het stollen werd hierop een suspensie van reïnculturen van *B. Coli*, *B. Typhosus* of *Vibrio Dunbar* uitgegoten.

Teneinde de bacteriën gelegenheid te geven zich gelijkmatig over het agar oppervlak te verspreiden, werden deze Petrischalen gedurende 24 uur op kamertemperatuur ge-

plaatst. Hierna werden de amoeben geënt, waarna de platen in de tropische kamer geplaatst werden.

Deze methode geeft betere resultaten dan methode A.

In de eerste plaats krijgt men op schalen veel beter overzicht over het voortschrijden der amoeben, iets dat men in buizen zelden nauwkeurig kan bepalen.

In de tweede plaats kan men de hoeveelheid overgeënte Amoeben op een plaat veel beter nagaan, dan in buizen. De kans, dat men in het geheel geen amoeben overent, en zodoende foute conclusies zou maken is zóó absoluut uitgesloten.

In de derde plaats is het volgens deze methode veel gemakkelijker de groei op de platen onderling te vergelijken. Absoluut noodzakelijk is het niet, de bacteriën één etmaal de gelegenheid te geven de platen te begroeien. In 't algemeen bleek mij, dat niet de hoeveelheid, maar veel eer de soort der bacteriën invloed uitoefende op de amoebengroei. Daarom werden ook vaak de Amoeben tegelijk met de bacteriën op de platen geënt. Verschil in resultaat gaf dit nimmer.

Methode C. In aflevering 4 Jaargang 1923 Deel 63 van het Geneeskundig Tijdschrift van Nederlandsch Indië verscheen van de hand van S. L. Burg een bijdrage getiteld: „Protozoologische Waarnemingen". Daarin wordt een nieuwe kweekmethode voor Amoeben aangegeven.

In buizen met schuine agar wordt onder in het condenswater een suspensie van colibacillen geënt. Hierna wordt de buis voorzichtig omlaag gehouden om de coli suspensie zoo gelijkmatig mogelijk over de agar-oppervlakte te laten vloeien.

Deze buizen worden dan in de tropische kamer geplaatst gedurende 24 uur, waarna zich een overal even dikke bacterielaag ontwikkeld heeft. Nu worden onder in het condenswater de Amoeben geënt en vervolgens worden de buizen weer in de tropische kamer geplaatst. Na 3 tot 4 $\times$ 24 uur kan men dan zien, dat de Amoeben de Colibacteriën

wegvreten. Men ziet daarbij vaak een lijntje ontstaan juist op de plaats, tot waar de Amoeben zijn voortgeschreden. Het bleek mij echter, dat dit verschijnsel te weinig constant optrad om daarvan bij de beoordeeling gebruik te maken. Toch gaf deze methode mij goede resultaten.

Bij alle mijne proefnemingen werden steeds meerdere, meestal 3 proeven met dezelfde verdunningen van het te onderzoeken middel naast elkaar genomen en daarnaast controle-buizen en platen vervaardigd om op deze wijze tegen fouten in de bereiding etc. te zijn beschermd.

Zooals uit het litteratuuroverzicht is gebleken, is het noodig twee zaken bij het onderzoek goed uiteen te houden.

1e. Zijn de amoeben en cysten onder invloed van den gebruikten voedingsbodem afgestorven? (doodelijke werking.)

2e. Zijn de amoeben in hun groei geremd? (remmende werking).

Bij de beschrijving mijner onderzoekingen zullen deze twee verschijnselen steeds worden onderscheiden.



Proefnemingen met emetine.

Hydrochloras Emetini werd in steriel water in oplossing gebracht in verdunningen: 1 op 100; 1 op 1000; 1 op 10.000 en 1 op 100.000. Van deze oplossingen werd 1 c.c. vermengd met 9 c.c. Liebig-agar. Deze buizen werden daarna goed geschud om het emetine innig met de agar te vermengen. Deze menging geschiedde bij een temperatuur tusschen de 40 gr. en 50 gr. bij welke temperatuur de gebruikte middelen geen verandering ondergaan. Zodoende werden voedingsbodems verkregen, waarin emetine in verdunningen voorkwam: 1 op 1000, 1 op 10.000, 1 op 100.000 etc. De agar liet ik scheef stollen. In het condenswater werden de amoeben geënt. Iederen dag werden deze buizen gecontroleerd en wel zóó, dat telkens 24 uur na het enten der amoeben de werking van het emetine werd nagegaan.

Methode A. In de buizen, die 1 op 1000 emetine bevatten, vertoonden zich **1 maal 24 uur na** het enten der amoeben, alleen eenige bacteriën. De amoeben, die den vorigen dag daarop geënt waren, hadden zich niet vermeerderd. Alle hadden zij zich geëncysteed en van deze cysten liet het grootste deel zich met eosine impregneeren, waren dus afgestorven.

In de buizen, die 1 op 10.000 emetine bevatten, was de bacteriegroei veel sterker dan in de vorige, doch van amoebengroei was er evenmin sprake. Hier waren ook alle amoeben in cysten overgegaan, en daarvan waren enkele reeds afgestorven. (Eosine). In de buizen, die 1 op 100.000 emetine bevatten, was de bacteriegroei weer veel sterker, dan bij 1 op 10.000. De amoeben hoewel niet geëncysteed waren toch óók niet vanuit het condenswater voortgeschreden op het agaroppervlak, zoodat er van amoebengroei nog niet gesproken kon worden. Doode cysten kwamen niet voor.

In de buizen, die 1 op 1.000.000 emetine bevatten, was de bacteriegroei en de amoebengroei geheel gelijk aan die der

controlebuizen. (De helft van het agaroppervlak begroeid met amoeben.)

Na tweemaal 24 uur werd het volgende waar genomen:

In de buizen met 1 op 1000 em. lieten de cysten der amoeben zich alle met eosine drenken. Ze zijn dus praktisch gesproken alle dood.

In de buizen 1 op 10.000 em. werd geen enkele levende amoebe meer aangetroffen, de cysten lieten zich voor het grootste deel met eosine drenken.

In de buizen 1 op 100.000 em. is er geenszins sprake van amoebengroei. Meerdere amoeben hebben zich geëncysteerd. Geen doode cysten.

In de buizen met 1 op 1.000.000 em. is de amoebengroei zoo sterk vooruit gegaan, dat het geheele agaroppervlak bedekt is met amoeben. Cysten worden er enkele waargenomen. In deze buizen valt geen werking meer waar te nemen van het emetine, ze verschillen in niets van de controle buizen.

Na driemaal 24 uur werd waargenomen:

In de buizen met 1 op 1000 em. en in die met 1 op 10.000 em. is er geen sprake van levende amoeben of cysten meer.

In de buizen met 1 op 100.000 em. vertoonen zich meerdere levende cysten en nog een enkele levende amoebe. Van amoebengroei is geen sprake.

In de buizen met 1 op 1000 em. zijn meerdere amoeben in cysten over gegaan, zoo ook in de controlebuizen.

Na 4 maal 24 uur hadden zich op alle buizen de amoeben geëncysteerd, zoodat er geen controle meer kon worden uitgeoefend, wat betreft de amoebengroei.

In de buizen 1 op 1000 en 1 op 10.000, is in de laatste 24 uur niets veranderd. In de buizen 1 op 100.000 is de grootte meerderheid der cysten afgestorven.

In de controlebuizen en in de buizen met 1 op 1.000.000 em. hebben zich alle amoeben geëncysteerd. Geen doode cysten.

Zooals uit het bovenstaande blijkt, werd gelet op de

dodelijke werking van het emetine op de amoeben en bovendien op de remmende werking, de invloed van het emetine op de voortplanting, deze is na te gaan door te letten op den groei.

Om de controle op den groei mikroskopisch te kunnen vast stellen, ben ik overgegaan tot methode B.

Methode B. Daartoe werden de buizen met Liebigagar opgesmolten en de oplossingen van emetine daaraan toegevoegd. Dit mengsel werd uitgegoten op Petrischalen. Deze methode is ook gevolgd door Pyman en Wenyon. (J. of Pharm. and. Exp. Th. 1917). Deze platen werden eveneens geregeld om de 24 uur gecontroleerd, bij welke controle steeds het volgende werd waar genomen:

Het emetine kwam op deze platen voor, in verdunningen 1 op 2000, 1 op 4000 enz, tot 1 op 20.000.

Na 1 × 24 uur. Op de 7 eerste platen waren alle amoeben en alle cysten practisch allen dood. (1 op 2000 em. tot 1 op 14.000 em.) Op de achtste plaat 1 op 16.000 waren slechts enkele levende amoeben aanwezig de overigen hadden zich geëncysteed van welke cysten het grootste gedeelte dood was. Hetzelfde beeld gaven ook de 9de en de 10de plaat. De bacterie-groei was bijna op alle platen gelijk. De controleplaat was voor drie vierden van haar oppervlak begroeid.

Na 2 × 24 uur was er van amoeben op alle platen niets meer te zien. Allen waren in cysten over gegaan en deze cysten waren alle dood. (Eosine). De controleplaat was over haar geheele oppervlak begroeid. Op alle platen was een sterke bacteriën-groei merkbaar.

Daar bij de gebruikte verdunningen ten slotte alle amoeben bleken af te sterven, werden platen met hoogere emetine verdunningen vervaardigd, n.l. van 1 op 1000, 1 op 10.000, 1 op 100.000 en 1 op 1.000.000. Deze proeven werden meerdere malen herhaald.

Na 1 × 24 uur. Op de platen met 1 op 1000 em. hadden zich alle amoeben geëncysteed. Van amoebengroei was

daar geen sprake, er waren veel bact. aanwezig. Zeer vele cysten waren reeds dood.

Op de platen met 1 op 10.000 em. waren de amoeben meestal voor het grootste deel nog als amoeben aanwezig, toch werden er geregeld vele cysten waargenomen, terwijl de platen steeds geheel volgroeid waren met bact. Van amoebengroei was ook in dit geval geen sprake.

Op de platen met 1 op 100.000 em. waren meestal na 1 maal 24 uur zeer weinig cysten aanwezig. (Men zou dat fysiologisch kunnen noemen, want op de controleplaat waren op de entplaats ook veelal enkele cysten te vinden. Bovendien deed zich in deze verdunning enkele malen (2 op 21) het geval voor van matige amoebengroei, in 1 geval zelfs tot een derde van de plaat, (controleplaat voor $\frac{3}{4}$ v. h. agar oppervlak begroeid.) In de meerderheid der gevallen was er van eenigen groei sprake, doch deze was uiterst gering, men zou dezen groei nog kunnen wijten aan het uitsploeien der amoeben door den groei der bacteriën. (Immers de amoeben werden steeds tegelijk met de bact. op de platen geënt.) De bacteriegroei was, steeds onbeperkt, d.w.z. de plaat was geheel met bact. bedekt.

De platen met 1 op 1.000.000 em. waren doorgaans net even dicht begroeid met amoeben als de controleplaat, zodat daarop geenerlei invloed meer te bemerken viel van de emetine.

De controleplaten waren meestal half begroeid met amoeben, nu eens wat meer, een anderen keer wat minder.

Na 2 maal 24 uur waren op de platen met 1 op 1000 em. alle amoeben geëncysteerd, terwijl hierbij nooit meer levende cysten aangetroffen werden.

De platen met 1 op 10.000 em. vertoonden geen levende amoeben of cysten meer, vaak waren deze al overwoekerd door de bact. en soms was er niets meer van hen op de entplaats te vinden.

Op de platen met 1 op 100.000 em. deed zich steeds het

geval voor, dat de amoeben allen tot cysten waren overgegaan, en van deze cysten waren er meestal slechts enkele in leven, de overgroote meerderheid was dood. Hierbij dient te worden opgemerkt, dat dit ook het geval was bij de twee gevallen, die na 1 maal 24 uur, zoo'n veel sterkere am.-groei vertoonden dan dat normaal was bij deze verdunning.

De platen met 1 op 1.000.000 em. verschilden niets van de controleplaten, deze waren meestal na 2 maal 24 uur geheel begroeid. Er werden dan wel reeds vele cysten waar genomen.

Na drie maal 24 uur, waren op de platen met 1 op 1000, 1 op 10.000 en 1 op 100.000 em. nooit meer levende amoeben of cysten te vinden. Op de platen 1 op 1.000.000 en op de controleplaten waren dan meestal haast alle amoeben in cysten overgegaan.

Toen nu voortdurend gevonden werd, dat de invloed van het emetine nog merkbaar was in een oplossing van 1 op 100.000 en niet meer in een oplossing van 1 op 1.000.000 heb ik proeven gedaan met verdunningen van 1 op 200.000. Daarbij kwam duidelijk voor den dag, dat een doodelijke invloed niet meer met zekerheid viel waar te nemen, doch dat er wel degelijk een invloed van 't emetine merkbaar was. Want hoewel steeds eenige groei bleek waar te nemen, bleek de groei op de emetine-platen steeds achter te blijven bij die op de controleplaten. Waren de amoeben op de controleplaten zeer dicht en ver gegroeid, dan vertoonden ook de emetine-platen een ruimeren groei; doch ook daarbij bleef het groote verschil opvallend.

Methode C. De buizen werden volgens bovenstaande methode gemaakt en de emetine oplossingen onder goed schudden innig met de gesmolten agar vermengd. Den volgende dag werden met een agglutinatiepipet drie druppels van een colisuspensie in Liebig bouillon over het agaroppervlak gespoten. Door heen en weer bewegen werd

zodoende een gelijkmatige bacterie bedekking van de agar verkregen. Dit werd gedaan omdat de hoeveelheid condenswater meestal te gering bleek, om het agaroppervlag geheel gelijkmatig te bedekken. Deze culturen werden 1 maal 24 uur in de tropische kamer geplaatst, den volgenden dag werden de am. geënt onderin het mengsel van condenswater en colibacillen bevattende bouillon.

24 uur na het enten der amoeben was er zelfs in de controlebuizen geen groei merkbaar. De amoeben schenen zich eerst meester dienen te maken van de bacteriën in het condenswater om daarna die op het agaroppervlak op te eten. Pas na 48 uur was het mogelijk om vanaf het onderste deel van het agaroppervlak eenige amoeben af te enten. Hierbij dient te worden opgemerkt, dat de buizen met 1 % Liebig-agar (welke meestal gebruikt werden) vaak niet stijf genoeg waren. Daarom werd weer gebruik gemaakt van 2 % Liebig-agar. Door het gebruiken van deze 2 % Liebig's-agar en de daarmee gepaard gaande bacteriëngroei, meen ik, dat het te verklaren is, dat pas na 2 maal 24 uur de amoeben het agaroppervlak hebben betreden. Het emetine kwam voor in verdunningen van 1 op 10.000, 1 op 100.000 en 1 op 1.000.000. Teneinde de controle te vergemakkelijken werden de buizen in plm. 8 deelen ($1\frac{1}{2}$ c.M.) verdeeld. Steeds werd van bovenaf deel voor deel gecontroleerd, zoodat het onmogelijk was de bacteriën uit lagere deelen van de buis in hoogere te brengen. Bij deze controle werd het volgende waargenomen:

Na 3×24 uur. De controlebuizen bleken na 3 dagen pas eenigen merkbaren groei te vertoonen. De amoeben hadden dan 't condenswater verlaten en bedekten ongeveer 2 c.M. van 't agaroppervlak, na 4 dagen was deze groei voortgeschreden tot ongeveer 8 c.M. en na 5 dagen was het agaroppervlak (12 c.M.) meestal geheel begroeid, terwijl ze dan onder in de buis voor het grootste gedeelte in cysten waren over gegaan. Het scheidingslijntje tusschen amoeben en bacteriën werd zelden waargenomen, en zóó het ont-

stond; dan was het steeds in buizen, die 7 tot 9 dagen geleden van amoeben voorzien waren. Vaak was **wel** eenige opheldering op die plaatsen te zien, waar de amoeben de bacteriën hadden weggevreten. Een groot nadeel van deze wijze van controleeren is, dat een buis eenmaal gecontroleerd, niet meer zoo goed gebruikt kan worden, daar de amoebengroei daardoor vaak beëindigt en de buis zoodoende voor verdere controle niet meer bruikbaar is.

In de buizen 1 op 1.000.000 em. was het gedrag der amoeben in niets verschillend met dat van amoeben in de controlebuizen.

In de buizen 1 op 10.000 em. werden na 3 dagen nooit meer levende amoeben waargenomen en steeds was de groote meerderheid der cysten dood, van groei was geen sprake.

In de buizen 1 op 100.000 werden wel is waar na 3 dagen meer levende cysten gevonden, dan in de buizen 1 op 10.000 em., doch de meerderheid der cysten was al dood en steeds moest men deze uit het condenswater opvisschen, zoodat ook hier van groei der amoeben geen sprake kan zijn.

Na 4 maal 24 uur kwam het geregeld voor, dat in de buizen 1 op 10.000 en 1 op 100.000 geen levende amoeben meer te vinden waren. Eveneens kwamen er ook geen levende cysten meer voor. Practisch gesproken waren deze buizen dus steriel ten opzichte van de amoeben.

Sommige zéér gunstige uitzonderingen dienen hier te worden vermeld.

Het gelukte 1 maal na 1 dag een controlebuis aan te treffen, die reeds voor driekwart van haar agaroppervlak begroeid was met amoeben. In diezelfde serie buizen vond ik in de buizen 1 op 10.000 nog levende amoeben, na 1 maal 24 uur, zoo ook meerdere levende cysten, doch van groei was geen sprake. In buis 1 op 100.000 van deze serie waren de amoeben tot op de helft van het agaroppervlak voortgegroeid de twee andere bleken wat minder begroeid,

doch zeker tot voor een derde deel van hun agaroppervlak.

In buis 1 op 1.000.000 em. was er geen verschil meer merkbaar met de controlebuis.

2 dagen later leverde de controle het volgende resultaat: (d.i. 3 maal 24 uur na het enten der amoeben.) In buis 1 op 10.000 em. was geen groei meer merkbaar, en zoo er nog amoeben of cysten aanwezig waren, dan waren zij alle dood. De buizen 1 op 200.000 en 1 op 1.000.000 waren geheel begroeid met amoeben en cysten en verschilden in niets van de controlebuizen.

Men dient hierbij niet te vergeten, dat in de groote meerderheid der gevallen de buizen 1 op 10.000 em. en 1 op 100.000 em. steeds wat de amoeben betreft steriel bleven. De buis 1 op 200.000 em. liet altijd pas na 3 dag. 'n zeer geringen groei zien. Daarbij was de controlebuis steeds geheel begroeid, zoo ook de buis 1 op 1.000.000 em., meestal was dit al het geval na 2 maal 24 uur. Dit resultaat kwam later zóó vaak voor, dat men het niet kon wijten aan de hoeveelheid amoeben, die werden overgeënt, het zou dan wel zeer toevallig zijn, dat men juist in de contrôlebuis en de buis 1 op 1.000.000 em. de meeste amoeben entte, terwijl op de sterker emetine doses bevattende buizen minder amoeben zouden zijn geënt.

De directe werking van het emetine op amoeben werd, als volgt nagegaan:

Emetine werd opgelost tot een 1 % oplossing. Hiervan werd een platina-oogje genomen, dit werd verwreven met een platina oogje amoeben centrifugaat, (dit centrifugaat werd verkregen door de amoeben van hun voedingsplaten af te spoelen en deze suspensie voorzichtig te centrifugeren.) Het bleek onmogelijk den dood der amoeben met eosine te controleeren, want de eosine deed het emetine neerslaan, terwijl eosine ook een, hoewel zwakke, maar toch doodende werking op de amoeben heeft. Teneinde het indrogen tegen te gaan, werden de randen der dekglaasjes met vaseline bestreken, en het praeparaat onder het mi-

kroskoop gecontroleerd. Zoodra de lichtbreking op hield en de bewegelijkheid en vormverandering verloren gegaan waren, werd waar genomen, dat direct daarop, de amoeben zich afrondden en dat sommigen daarbij barstten. Wanneer dit het geval was bij alle amoeben dan werd dadelijk met eosine gecontroleerd, waarna alle cellen zich terstond daarmede kleurden. In een mengsel van 1 op 200 em. duurde 't meerdere tientallen minuten, voordat alle amoeben zich hadden afgerond, pas na volle 50 minuten waren ze alle onbewegelijk, hadden hun lichtbrekend vermogen verloren en was bij vele de randzône gebarsten. In proefjes hiervan kleurden zij zich terstond met eosine.

Conclusie.

Hydrochloras Emetini is slechts in een oplossing sterker dan 1 op 200 in staat de amoeben binnen één uur te doden.

Bij langdurige inwerking zijn veel hogere verdunningen in staat de amoeben en ook de cysten tot afsterven te brengen. Na 3×24 uur blijken bij een verdunning van 1 op 100.000 hydrochl. emetini geen levende amoeben aanwezig te zijn en zelfs vele der cysten te zijn afgestorven.

Hydrochl. emetini in den voedingsbodem ingesmolten is in staat den groei der amoeben volkomen te remmen, tot in een oplossing van 1 op 100.000. In een oplossing van 1 op 200.000 houdt de emetine den groei belangrijk tegen. Een doodende werking is daarbij niet vast te stellen.

Bij mijn proeven viel bij een verdunning van 1 op 1.000.000 geen werking waar te nemen.



ONDERZOEKINGEN MET CEPHAELINE EN PSYCHOTRINE.

Tegelijk met de bespreking van emetine dient die van deze twee ipecacuanha alkaloïden te volgen. Immers volgens Pyman en Wenyon zijn deze chemisch zeer nauw aan elkander verwant, doch hun werking loopt sterk uiteen.

Pyman en Wenyon vonden, dat emetine en cephaeline ongeveer gelijke werking hebben op wilde amoeben. Psychotrine daarentegen een veel geringere.

Emetine en **cephaeline** doodden in oplossingen 1 op 1000, en 1 op 10.000 in 5 dagen de amoeben.

In oplossingen 1 op 100.000 hadden zij volgens hen toch sterk remmende werking.

Psychotrine had geen invloed in oplossing 1 op 1000 en 1 op 10.000.

Eigen onderzoekingen leeren mij, dat de plaatmethode het best te vertrouwen is. Daar deze stoffen onder invloed van het licht snel veranderen, zijn de latere onderzoekingen minder betrouwbaar. Mijn onderzoekingen met cephaeline zal ik hier niet vermelden, daar deze wegens de slechte oplosbaarheid niet te vertrouwen zijn. In groote trekken kwamen zij overeen met de resultaten van het onderzoek met emetine.

Psychotrine. Van Psychotrine stond mij slechts een geringe hoeveelheid ten dienste, die ik alleen voor de **methode B.** kon gebruiken.

Psychotrine werd opgelost in water. Deze oplossing werd in voedingsbodems verwerkt tot concentraties resp. van A. 1 op 200. B.: 1 op 400. C.: 1 op 2000. D. 1 op 4000. E.: 1 op 20.000. F.: 1 op 200.000.

Na 1 maal 24 uur vertoonden de platen met 1 op 200 psychotrine een geringen bacteriëngroei, van amoebengroei was geen sprake, er werden geen levende amoeben of levende cysten aangetroffen.

Plaat B. 1 op 400, vertoonde zeer zeker eenigen bact. groei. Er waren geen levende amoeben of cysten te vinden.

Plaat C. 1 op 2000, vertoonde sterker bact. groei over de geheele plaat, de amoeben hebben zich allen geëncysteed, het meerendeel der cysten is dood, enkele leven nog, doch zijn sterk door bact. overwoekerd.

Plaat D. 1 op 4000, was geheel, overgroeid met bacteriën, de amoeben waren ongeveer 2 c.M. van hun entplaats voortgegroeid, doch meerderen hebben zich reeds geëncysteed. Deze cysten leefden allen.

Plaat E. 1 op 10.000. Op deze plaat was het gedrag der amoeben in niets verschillend van dat op de controleplaten.

Zoo ook op plaat F. 1 op 100.000 psych. was het gedrag der amoeben als dat op de controleplaten.

Na 48 uur was de toestand op de platen A. B. en C. gelijk, daar waren n.l. alle cysten gestorven zonder dat er eenige groei aanwezig geweest was.

Plaat D. echter, liet doorlopend groei der amoeben zien, hoewel deze groei sterk geremd was.

De platen E. en F. vertoonden hetzelfde beeld als de controleplaten.

Na 3 maal 24 uur waren de platen A. B. en C. als na 2 maal 24 uur. Op plaat D. hadden alle amoeben zich geëncysteed, van groei was gedurende de laatste 24 uur geen sprake meer geweest. De platen E. en F. en de controleplaten vertoonden niets dan levende cysten.

CONCLUSIE.

Op grond van bovenstaande blijkt, dat psychotrine in oplossingen sterker dan 1 op 2000, amoeben doodt. Oplossingen zwakker dan 1 op 2000 oefenen een remmende werking uit op de ontwikkeling der amoeben. Boven de 1 op 4000 is er geen werking meer waarneembaar.

KININE.

Dale en Dobell in hun bestrijding van Vedder, meenden, dat de werking van emetine op geïsoleerde amoeben, dán alleen aanleiding mocht geven tot het gebruik van emetine in de kliniek, wanneer andere alkaloïeden, die in de kliniek een minder specifieke therapeutische werking bij am.-dysenterie vertoonden, bij proeven in vitro op amoeben eveneens een minder sterke werking zouden blijken te hebben.

Zij vonden daarbij, dat kinine een krachtiger invloed uitoefent bij proeven in vitro, dan emetine. Jammer alleen is het, dat zij deze krachtiger werking nooit in cijfers hebben uitgedrukt.

Sellards en Leiva vonden in 1923 bij vergelijkende proeven, dat bij oplossingen van 1 op 500.000 bihydrochloras Chinini talrijke amoeben leefden. Bij dezelfde proefnemingen vonden zij slechts enkele amoeben bij een oplossing van 1 op 5.000.000 hydrochl. Emetini. Hieruit blijkt dus, dat men het over de werking van kinine op amoeben nog niet geheel eens is.

Opdat ik gebruik zou kunnen maken van zoo sterk mogelijke kinine opl. ging ik uit van het bihydrochloras Chinini, dit werd opgelost in water. Alleen in de buizen, welke niet volgens de methode C behandeld werden, werd gebruik gemaakt van hydrochloras Chinini.

Er werden buizen gemaakt waarin hydrochloras Chinini voorkwam in opl. van 1 op 2000; 1 op 2500; 1 op 3000; 1 op 4000; 1 op 5000 en 1 op 10.000.

Methode A.

Na 1 × 24 werd waargenomen:

In de buizen 1 op 2000 kinine, waren zeer veel bacteriën, er werden geen levende amoeben of cysten aangetroffen.

In de buizen 1 op 2500; 1 op 3000; en 1 op 4000 kinine, werd hetzelfde waargenomen, alleen was daar de bacteriëngroei sterker.

De buizen met 1 op 5000 kinine, vertoonden levende amoeben, er was misschien eenige groei aanwezig, cysten werden er niet gevonden. De bacteriëngroei was sterk.

De buizen met 1 op 10.000 kinine, vertoonden een net even sterke amoebengroei als de controlebuizen, waarin ook sterke bacteriëngroei aanwezig was.

Na 2×24 uur werd constant waargenomen:

In de buizen met 1 op 2000; tot en met 1 op 4000 kinine, willen zich geen amoeben ontwikkelen. Het is niet mogelijk om zelfs in het condenswater nog levende amoeben of cysten waar te nemen, wel worden nog enkele doode cysten gevonden.

In de buizen 1 op 5000 kinine, blijkt de amoebengroei constant te zijn, doch deze blijft steeds ten achter bij den groei in de buizen 1 op 10.000.

De buizen 1 op 10.000 kinine zijn geheel begroeid met amoeben juist, zooals de contr. buizen.

Na 3×24 uur en 4×24 uur, blijkt, dat de toestand wat den groei betreft, in niets veranderd is.

Na 5×24 uur hebben alle amoeben zich geëncysteed.

Methode B.

Platen werden gemaakt, waarin 1 % Liebigagar met een kinine gehalte van 1 op 200; 1 op 500; 1 op 1000; 1 op 5000; 1 op 10.000; en 1 op 100.000.

Na 1×24 uur bleek, dat op de platen 1 op 200; en 1 op 500 kinine geen levende amoeben of cysten meer te vinden waren, er was ook een duidelijk vertraagde bacteriëngroei weer te nemen.

Op de platen 1 op 1000; en 1 op 5000 hadden de bacteriën de amoeben en de cysten overwoekerd. De amoeben maakten nog wel trage bewegingen, terwijl de cysten grootendeels nog in leven waren.

Op de platen 1 op 10.000 kinine, waren de amoeben 8 c.M. uitgegroeid vanaf hun entplaats, de bacteriën waren hier geheel met de amoeben mede gegroeid.

Hetzelfde werd ook waargenomen op de platen 1 op 100.000 kinine, deze waren evenals de controleplaten in niets verschillend van de platen 1 op 10.000.

Na 2×24 uur bleek, dat: de toestand op **de platen 1 op 200**; en **1 op 500**, onveranderd was gebleven, er werden geen levende amoeben of cysten meer gevonden.

Ook op **de platen 1 op 1000**, werden geen levende amoeben of cysten meer gevonden.

Op **de platen 1 op 5000**, daarentegen, waren de amoeben uitgegroeid, wel waren meerdere amoeben in cysten overgegaan.

De **platen 1 op 10.000** en op **100.000** kinine en de controleplaten waren over hun geheele oppervlakte dicht begroeid met amoeben, terwijl er geen cysten te vinden waren.

Na 3×24 uur en na 4×24 uur, bleek de toestand stationnair te blijven wat de amoebengroei betrof, alleen nam het aantal cysten sterk toe.

Na 5×24 uur waren op alle platen alle amoeben in cysten overgegaan.

Methode C.

Tenslotte werd ook met kinine de methode C toegepast, steeds werden er buizen gemaakt met 1 op 1000; 1 op 4000; 1 op 5000; 1 op 6000; 1 op 8000 en 1 op 10.000 bihydrochloras chinini.

Na 1×24 uur.

Op de buizen met 1 op 1000 en 1 op 4000 kinine ontwikkelden zich nooit amoeben, ook werden daarin nooit levende amoeben of cysten in het condenswater mengsel (bouillon colibac. en condenswater) waargenomen.

In de buizen 1 op 5000 kinine werd slechts zelden (2 op 12 maal) amoebengroei waargenomen; het was altijd echter mogelijk in het condenswater levende amoeben en cysten aan te treffen (de kans was niet uitgesloten, dat bij deze twee gevallen de amoeben vanuit het condenswater ge-

schud waren op het agaroppervlak en daar waren blijven hangen).

In de buizen met 1 op 6000 en 1 op 8000 was steeds constant amoebengroei aanwezig, dit was **in de buizen 1 op 6000** voor een vierde deel van het agaroppervlak en in de buizen **1 op 800** de helft van het geheele agaroppervlak.

In de buizen met 1 op 10.000 kinine was nooit eenig verschil waar te nemen met de resultaten der controlebuizen.

Na 2×24 uur bleek steeds, dat de buizen **1 op 1000 en 1 op 4000**, steriel bleven wat de amoeben groei betreft.

De buizen 1 op 5000, vertoonden steeds nog eenige levende amoeben en een groote menigte levende cysten in het condenswater — als er groei was, dan was deze uiterst beperkt.

In de buizen met 1 op 6000 kinine, had de amoebengroei zich tot op de helft van het agaroppervlak uitgebreid.

In de buizen met 1 op 8000 en daar boven was de amoebengroei gelijk, het geheele agaroppervlak was daarin begroeid.

Na 3×24 uur kon men steeds waarnemen, dat in alle buizen het aantal cysten toegenomen was (t.w. de buizen boven de 1 op 5000).

Na 5×24 uur hadden alle amoeben zich geëncysteed.

CONCLUSIE.

Op grond van bovenstaande resultaten blijkt, dat kinine in verdunningen tot 1 op 4000 het vermogen bezit de amoeben te doden. In oplossingen tot 1 op 6000 kan kinine alleen de amoeben-ontwikkeling tegengaan. Immers in de buizen met 1 op 6000 kinine was de amoebengroei steeds wat ten achter bij die in de buizen met sterker verdunningen. Boven de 1 op 6000 bleek niets meer van eenigen invloed van de kinine op de amoeben.

PAPAVERINE.

Evenals kinine is papaverine onderzocht om na te gaan of het misschien in nog hogere verdunningen dan emetine doodelijk zou werken op de culturen der amoeben. Proeven hierover met dit middel zijn alleen gedaan door Sellards en Leiva. Zij vonden, dat hydrochloras papaverini in opl. van 1 op 10.000 alleen bacteriën laat groeien. Bij 1 op 50.000 vonden zij groei van talrijke amoeben. (emetine 1 op 10.000.000 en 1 op 50.000.000.)

EIGEN ONDERZOEKINGEN.

Papaverine is alleen onderzocht volgens methode B en volgens methode C. Hydrochloras papaverini werd opgel. in water en niet van te voren gesteriliseerd.

Methode B.

Met deze opl. werden agarplaten gemaakt, zóó, dat het papaverine daarin aanwezig was resp. in opl. van 1 op 200; 1 op 500; 1 op 1000; 1 op 2000; en 1 op 5000, zoo ook in opl. van 1 op 10.000.

(Opgemerkt dient hierbij te worden, dat in de lagere verdunningen van papaverine tot in de verdunning 1 op 1000 zich steeds in de agar een neerslag vormde.)

Na 1 × 24 uur kwam daarbij constant voor: **op de platen 1 op 200**, waren alle amoeben en cysten dood, de bacteriën hadden de amoeben grootendeels overwoekerd.

Op de platen 1 op 500, werd nu eens amoebengroei geconstateerd, dan weer bleef deze achterwege. Steeds echter waren er levende amoeben en cysten aanwezig.

Op de platen 1 op 1000 was steeds duidelijk amoebengroei aanwezig. Nooit werden er cysten waargenomen. De amoebengroei was steeds gering vergeleken bij de volgende platen.

Op de platen 1 op 5000 ontwikkelden de amoeben een overvloedigen groei, die ongeveer de helft innam van die

der platen: **1 op 10.000 en 1 op 100.000**. Deze platen vertoonden doorgaans 'n even sterken amoebengroei, die weinig verschilde van den groei op de controleplaten.

Na 2 × 24 uur bleek:

De toestand op de platen **1 op 200** was onveranderd gebleven.

De de platen **1 op 500**, waar na **1 × 24 uur** groei was opgetreden, was deze groei een weinig vooruitgegaan, was er na **1 × 24 uur** géén groei geweest, dan was er na **2 × 24 uur** ook geen groei te bespeuren.

Op de platen **1 op 1000** nam de groei steeds toe, doch deze bleef altijd minder dan die op de platen **1 op 5000**, die weer minder was dan de groei op de platen **1 op 10.000**.

De platen **1 op 10.000 en 1 op 100.000** vertoonden steeds hetzelfde groeibeeld als de controleplaten.

Na 3 × 24 uur veranderde de toestand op de verschillende platen alleen in zóóverre, dat het aantal cysten regelmatig toenam, terwijl de groei der amoeben stationnair bleef.

Na 4 × 24 uur meestal en **na 5 × 24 uur zeker**, waren de amoeben alle in cysten overgegaan.

Methode C.

De proeven volgens de methode C gaven hetzelfde resultaat als de proeven volgens de plaatmethode. Hierbij bleek, dat in de buizen **1 op 500**, eigenlijk nooit groei optrad. In de buizen **1 op 1000** was dat wel het geval, daarin zag men vaak, ongeveer 2 c.M. boven het condenswater mengsel, amoebengroei op het agaroppervlak.

In de buizen **1 op 5000** kwam de groei nooit verder dan tot op de helft van het agaroppervlak.

In de buizen **1 op 10.000** en in buizen met hoogere verdunningen waren de amoeben na 2 dagen over het geheele agaroppervlak uitgegroeid.

CONCLUSIE.

Op grond van bovenstaand resultaat blijkt dus, dat papaverine in een opl. **1 op 250** doodend werkt op de amoeben. Een opl. van **1 op 500** is niet meer doodelijk, doch deze maakt allen amoebengroei onmogelijk.

De hoogere verdunningen tot op **1 op 5000** toe vertoonden duidelijke remming, pas bij **1 op 10.000** is geen invloed meer merkbaar. Opl. van **1 op 500** tot **1 op 5000** geven zeer sterke remming op de amoeben in vitro.



YATREEN.

Yatreen is een Behring-preparaat. Al vroeger is het genoemd als desinfectans, doch onder anderen naam. Het is een synthetische bereide stof: Joodsulfon-Ortho-Oxybenzolpyridine.

De giftigheid is zóó gering, dat het zonder gevaar op groote wondoppervlakten gebruikt kan worden. Het wordt voor een deel onveranderd in de urine uitgescheiden. Het is reukloos en lost gemakkelijk op in water, waarbij gasontwikkeling ontstaat.

Daar er geen onderzoeken gedaan zijn over yatreenwerking op amoebenculturen, wil ik hier toch even in het kort mededeeling doen van ervaringen in de kliniek met yatreen. Het yatreen speelt tegenwoordig in de therapie der amoebiasas een groote rol, Mühlens en Menk publi-

ceerden in 1921 in de Münchener Mediz. Wochenschrift No. 26 p. 802 de eerste resultaten met yatreen verkregen.

De krachtige therapeutische werking van yatreen op amoebiasis werd door Bax in zijn dissertatie (1924 Amsterdam) uitvoerig vermeld. In deze dissertatie kan men een juist overzicht verkrijgen over de klinische waarde van dit middel, reden waarom ik daar niet dieper op ingaan kan.

EIGEN ONDERZOEK.

Teneinde een juist vergelijkend overzicht te verkrijgen omtrent de werking der verschillende geneesmiddelen, werden bij het yatreenonderzoek dezelfde methoden gevolgd als bij emetine.

In buizen met 8 c.c. Liebigagar werden 2 c.c. van een 5 % yatreenoplossing samengesmolten en innig onderling vermengd.

In buizen met 9 c.c. Liebig-agar werden achtereenvolgens samengesmolten 1 c.c. van een 1 % oplossing, 1 c.c. van een 0.1 % opl. en 1 c.c. van een 0.01 % opl. Zoo ontstonden er dus voedingsbodems met 1 %, 0.1 %, 0.01 % en 0.001 % yatreen. Hierop werden de amoeben geënt en deze buizen werden in de tropische kamer geplaatst en om de 24 uur gecontroleerd.

Methode A.

Na 1 maal 24 uur werd waargenomen:

In de buizen met 1 % yatreen ontwikkelden zich geen amoeben, er waren geen levende amoeben en het meerendeel der cysten was dood, er was slechts zeer geringe bacteriëngroei.

In de buizen met 0.1 % yatreen hadden de amoeben zich vermenigvuldigd, er was eenige amoebengroei te bespeuren, cysten waren er niet te vinden, de bacteriëngroei was duidelijk zichtbaar.

In de buizen van 0.01 % (1 op 10.000) yatreen was de amoebengroei nog sterker dan bij 1 op 1000, er waren geen

cysten te vinden, de bacteriëngroei was gelijk aan den op de buizen 1 op 1000.

In de buizen met 1 op 100.000 yatreen was de amoebengroei even sterk als in de controlebuizen. Er werden geen cysten waargenomen.

Na 2×24 uur werd waargenomen: in de buizen **1 op 100 yatreen**, blijkt een duidelijk geremde bacteriëngroei, van amoebengroei is geen sprake, terwijl er geen levende amoeben of cysten gevonden worden.

In de buizen met 1 op 1000 yatreen is een sterke amoebengroei aanwezig, er worden nu ook cysten waargenomen, doch hiervan is er geen enkele dood. De buis is over ongeveer het geheele agaroppervlak met amoeben begroeid, de bacteriëngroei is geheel als in de controlebuis.

In de buizen 1 op 10.000 en 1 op 100.000 yatreen, zoo ook in de controlebuizen blijkt de groei der amoeben zich over het geheele agaroppervlak te hebben uitgebreid, terwijl meerdere amoeben zich hebben geëncysteed.

Na 3×24 uur bleek: in de buizen 1 op 100 yatreen is de toestand onveranderd gebleven.

In de buizen 1 op 1000, 1 op 10.000 en 1 op 100.000 yatreen hadden zich de meeste am. geëncysteed, nadat het geheele agaroppervlak volgroeid was. Dit werd ook waargenomen in de controlebuizen.

Na 4×24 uur werd waargenomen, dat in alle buizen boven 1 op 100 yatreen alle amoeben zich hadden geëncysteed.

Uitzonderingen op deze resultaten werden door mij nooit waargenomen.

Methode B.

Yatreen werd in water opgelost en zóó met de Liebig-agar vermengd, dat er platen ontstonden met: **A:** 1 op 50; **B:** 1 op 100; **C:** 1 op 250; **D:** 1 op 500; **E:** 1 op 700; **F:** 1 op 1000; **G:** 1 op 1400; **H:** 1 op 1600 **L:** 1 op 2000. De amoeben werden tegelijkertijd met de bacteriën geënt, en steeds

werd waargenomen, dat de amoeben de bacteriën medenamen op hun reis over het agaroppervlak.

Na 1 × 24 uur bleek:

de controleplaten zijn voor $\frac{3}{4}$ van het agar-oppervlak met amoeben en bacteriën begroeid.

De platen **A**, 1 op 50 yatreen vertoonen noch mikroskopisch, noch makroskopisch eenigen amoebengroei. Er werden geen levende amoeben of bacteriën waargenomen, wel eenige levende cysten.

De platen **B**, 1 op 100 yatreen gaven hetzelfde beeld als de platen **A**.

De platen **C**, 1 op 250 yatreen, vertoonden makroskopisch noch mikroskopisch eenigen amoebengroei. Er was bacteriëngroei aanwezig, er werden meerdere levende cysten waargenomen.

De platen **D**, 1 op 500 yatreen, vertoonden eenigen amoebengroei. Een enkele amoebe heeft zich geëncysteerd. De bacteriëngroei is levendig.

De platen **E**, 1 op 700 yatreen, geven een geringen doch dichten amoebengroei te zien. Hier worden eveneens enkele cysten waargenomen; bacteriëngroei, levendig.

De platen **F**, 1 op 1000 yatreen vertoonen een zeer duidelijk waarneembaren amoebengroei en een sterken bacteriëngroei. Er zijn zeer weinig cysten.

De platen **G**, 1 op 1400 yatreen vertoonen evenals de platen **H**, 1 op 1600 en de platen **I**, 1 op 2000 yatreen hetzelfde beeld als de controleplaten, zij zijn voor $\frac{3}{4}$ van hun agaroppervlak begroeid met amoeben en bacteriën, er worden daarbij geen cysten waargenomen.

Na 2 × 24 uur werd waargenomen:

Plaat A: amoebengroei afwezig, levende am. niet gevonden, cysten allen dood, bact. groei ook afwezig.

Plaat B: amoebengroei afwezig, geen levende amoeben, alleen doode cysten, bact. groei afwezig.

Plaat C: amoebengroei afwezig, geen levende amoeben, wel levende cysten, maar geringe bacteriëngroei.

Plaat D: amoebengroei afwezig wel levende amoeben en levende cysten, matige bact. groei.

Plaat E: sinds den vorigen dag geen groei der amoeben, rijkelijk levende amoeben, zeer weinig cysten. Bacteriëngroei als op de controleplaten.

Plaat F: zeer duidelijke amoebengroei, louter levende amoeben, geen cysten en zeer sterke bacteriëngroei.

Plaat G: zeer sterke amoebengroei, levende amoeben, geen cysten en zeer sterke bact. groei.

Plaat H: en **plaat I:** wijken in niets af van de controleplaten en van **plaat G.**

Controleplaten: vol amoeben, geen cysten te vinden, zeer levendige bacteriëngroei.

Na 3 × 24 uur werd waargenomen:

De platen A, en B blijken absoluut geen leven te bevatten, noch van amoeben, noch van cysten, noch van bacteriën.

De platen C, D, en E: vertoonen geen amoebengroei, maar het yatreen schijnt de cysten in deze concentratie niet te kunnen dooden, immers zijn er nog meerdere levende cysten aanwezig.

De platen F, G, H, en I: gedragen zich geheel zooals de controleplaten.

Na 7 × 24 uur blijkt:

De controleplaten en **de platen F, G, H, en I:** zijn geheel bedekt met levende cysten.

Op de **platen C, D, en E:** is gedurende al deze dagen geen groei te bespeuren geweest, doch de daarop aanwezige cysten blijken allen nog te leven.

Op de **platen A, en B:** is niets levends meer waar te nemen.

Methode C.

Hiervoor werden buizen gemaakt, die achtereenvolgens 1 op 250; 1 op 500; en 1 op 750; en 1 op 1000; yatreen bevatten.

Deze buizen werden niet gemaakt met 1 % Liebigagar, die voor alle andere proefnemingen gebruikt werd, doch met de 2 % Liebigagar. Dit werd gedaan om het in elkaar zakken der agar te voorkomen. Deze buizen werden 1 dag nadat ze gemaakt waren voorzien van 2 druppels van een suspensie van coli-bacillen in Liebig bouillon. Hierna werden alle buizen heen en weder gekanteld, zoodat deze colisusp. in een zeer dun laagje over de agaroppervlakte verspreid werd.

Om de bacteriegroei te bespoedigen werden de buizen gedurende 1×24 uur in de tropische kamer geplaatst. Den dag daarop werden de amoeben geënt onder de buis, in het mengsel van condens-water en coli-bacillen bevattende bouillon. Deze amoeben werden altijd afgeënt van een cultuur niet ouder dan 2×24 uur. Hierna werden de buizen weer om de 24 uur gecontroleerd, terwijl zij steeds bewaard werden op de temperatuur der tropische kamer.

Na 1×24 uur bleek dat:

In de buizen met 1 op 250 yatreen wilden de amoeben zich nooit ontwikkelen, nooit werd op het agaroppervlak één amoebe of cysten aangetroffen. Onder in het condens-water-bouillonmengsel werd een wit randje neerslag waargenomen. Wanneer dit voorzichtig werd weggehaald en onder het mikroskoop werd bekeken, dan bleek, dat daarin cysten aanwezig waren. Deze cysten, zeer gering in aantal, waren meerendeels afgestorven.

In de buizen met 1 op 500 yatreen, daarentegen ontwikkelden de amoeben zich voorspoedig. Deze ontwikkeling ging weliswaar langzamer dan die in de controlebuizen, doch meestal bleef zij op den langen duur slechts weinig daar bij achter.

In de buizen met 1 op 750 en 1 op 1000 yatreen kon nooit eenig verschil worden waargenomen met de controlebuizen. **Van één geval** dient hier nog melding te worden gemaakt, waarbij op **de buizen van 1 op 500** yatreen na 1 % 24 uur de amoeben niet wilden groeien, terwijl de controle-

buizen geheel begroeid waren. Wel werden er levende cysten gevonden in het neerslag onder in het condenswater.

De buizen met 1 op 1000 yatreen waren daarbij voor een derde deel van hun agaroppervlak met amoeben bezaaid.)

Na 2×24 uur werd waargenomen in de gewone gevallen, dat:

De buizen met 1 op 500 yatreen waren voor minstens twee derden van hun oppervlak met amoeben begroeid. Meestal was het oppervlak geheel begroeid in de buizen met **1 op 700 en 1 op 1000 yatreen**.

In dat ééne uitzonderingsgeval wilden na 2×24 uur de amoeben zich ook niet ontwikkelen op **de buizen 1 op 500 yatreen**, niettegenstaande de amoeben op de buizen **1 op 750 en 1 op 1000 yatreen** hun normalen groei vertoonden. Typisch was ook, dat tegen den tijd, dat de amoeben zich allen in cysten hadden veranderd een klein opgeworpen randje boven in deze buizen ontstond. Wanneer dit voorzichtig werd weggenomen en met eosine bekeken, dan bleek dit louter cysten te bevatten. Daarboven konden geen amoeben of cysten worden aangetoond, zoodat dit de grenslijn tusschen amoeben en bacteriën is geweest.

Na 2×24 uur was er in de buizen **1 op 250** nooit meer een levende amoebe of cyste waar te nemen. Deze toestand van amoebengroei in buizen boven 1 op 250 yatreen bleek constant te zijn.

CONCLUSIE.

Het eene en eenige uitzonderingsgeval daargelaten, kwam het constant voor, dat yatreen in oplossingen niet zwakker dan 1 op 100 absoluut doodend werkt op culturen van amoeben. Oplossingen niet zwakker dan 1 op 500 en zwakker dan 1 op 1000 blijken wel den groei te belemmeren doch niet de amoeben te doden. Oplossingen boven de 1 op 500 gaven na 2 dagen hetzelfde beeld als de controlebuizen, dus misschien is hier nog eenige invloed merkbaar, doch deze zou dan op den langen duur ontbreken. Oplossingen zwakker dan 1 op 1000 vertoonden nooit eenigen invloed.

SUPEROL.

Superol is een geel, eigenaardig riekend poeder, dat helder in water oplost en daarin een geel gekleurde opl. geeft. De fabrikant, de Amsterdamsche Superfosfaatfabriek, zegt, dat het: Sulfas ortho-oxychinolini is.

Nauwkeurige literatuuropgaven over de werking van superol zijn slechts weinig bekend. Het wordt aangeraden als een inwendig-septicum, dat geheel schadeloos heet te zijn. Om deze reden hebben wij den invloed van superol op culturen van amoeben onderzocht. De eenige litteratuur opgave omtrent superol en zijn invloed op bact. is onlangs verschenen als No. 6 van de mededeelingen van het Rijks-Instituut, voor Pharmaco Therapeutisch Onderzoek te Leiden Dec. 1923. Daarin wordt vermeld, dat superol een anti-septicum is, dat vooral streptococcen doodt. Het is voor proefdieren betrekkelijk weinig giftig, alleen met uitzondering van muizen. Zelfs in opl. van 1 op 500.000 werd de ontwikkeling van streptococcen nog geremd.

Verdunningen hooger dan 1 op 5000, vermochten niet meer den groei van *B. Typhosus* te remmen.

Bij *Staphylococcus aureus* was een concentratie van 1 op 20.000 noodig om in één dag den groei te remmen. Na 2 dagen was deze remming al niet meer zoo sterk, terwijl na 6 dagen deze invloed geheel verdwenen was.

EIGEN ONDERZOEK.

Methode A.

Superol werd opgelost in water. Van deze waterige opl. werd gebruik gemaakt om buizen te maken met een superol gehalte: 1 op 100; 1 op 1000; 1 op 10.000; 1 op 100.000 en 1 op 1.000.000. Deze werden weer behandeld op dezelfde wijze als de buizen met emetine.

Na 1 × 24 uur werd waargenomen:

Buis 1 op 100, vertoonde geen levende amoeben of leven-

de cysten en ook geen levende bacteriën; zooals vanzelf spreekt ontbraken amoeben- en bacteriëngroei.

Buis 1 op 1000 vertoonde geen levende amoeben (1 geval uitgezonderd) alle cysten en alle bacteriën waren dood. Geen amoeben- of bacteriëngroei.

Buis 1 op 10.000 vertoonde veel levende cysten; levende amoeben en levende bacteriën ontbraken. Geen amoeben- en bacteriëngroei.

Buis 1 op 100.000 veel levende amoeben, veel levende cysten, veel bacteriën. Zeer geringe amoeben- en bacteriëngroei waarneembaar.

Buis 1 op 1.000.000 vertoonde geen doode amoeben of cysten; er was rijkelijk amoeben- en bacteriëngroei.

Na 2 × 24 uur waargenomen:

In de buizen 1 op 100 en 1 op 1000 is absoluut geen groei, noch van amoeben noch van bacteriën. Alle cysten zijn dood.

De buizen 1 op 10.000 vertoonen absoluut geen groei, geen levende amoeben en geen bacteriën gezien, de cysten, die gezien worden, zijn allen dood.

Buizen 1 op 100.000 vertoonen geen levende amoeben meer. Den vorigen dag is er geringe groei geweest, terwijl de bacteriëngroei zeer rijk is. Enkele levende cysten.

De buizen 1 op 1.000.000 vertoonen goeden groei. Enkele cysten zijn reeds dood, doch er komen nog rijkelijk levende amoeben voor. Controlebuizen zijn geheel begroeid met amoeben, waarvan zich een enkele heeft geëncysteerd.

Na 3 × 24 uur, bleek dat:

In de buizen met 1 op 100; 1 op 1000; en 1 op 10.000, alle amoeben en cysten afgestorven waren.

In de buizen met 1 op 100.000 waren alle amoeben geëncysteerd sinds 2 × 24 uur.

In de buizen met 1 op 1.000.000 was geen groei meer waar te nemen sinds den vorigen dag. Er worden niets anders dan cysten gevonden. Controlebuizen vertoonen meerdere amoeben, die zich hebben geëncysteerd.

Na 4×24 uur, was de toestand onveranderd gebleven sinds den vorigen dag alleen met dit verschil, dat op de controlebuizen alle amoeben in cysten waren overgegaan.

Methode B.

Bij de methode B. werden de lagere verdunningen niet meer onderzocht, daarom werden er platen gemaakt met een gehalte aan superol resp. van 1 op 10.000; 1 op 100.000; 1 op 1.000.000 en 1 op 10.000.000.

Na 1×24 uur, bleek dat:

Op de platen van **1 op 10.000** wilden zich geen amoeben of cysten ontwikkelen, alle amoeben en cysten waren dood gegaan, er werden geen bacteriën waargenomen.

Bij **1 op 100.000** ontwikkelde zich een zeer geringe amoebengroei.

Bij **1 op 1.000.000** was de amoebengroei wel veel beter, doch bleef steeds ten achter bij die op de platen **1 op 10.000.000**. Op deze laatsten was de amoebengroei geheel gelijk aan die op de controleplaten.

De duur der inwerking scheen hier geen invloed te hebben, want na 2×24 uur en ook na 3 en 4×24 uur, bleek er niets geen verandering in dezen toestand opgetreden, alleen natuurlijk, dat de amoeben in cysten overgingen.

Methode C.

Volkomen dezelfde resultaten als hierboven vermeld, gaven de proefnemingen volgens de methode C.

Op grond van bovenstaande proefnemingen mag men dus het volgende **concludeeren**:

CONCLUSIE.

Superol werkt in oplossingen lager dan 1 op 10.000 absoluut doodend op de amoeben. Oplossingen lager dan 1 op 10.000 maakten ook den bacteriëngroei onmogelijk. In opl. van 1 op 1.000.000, is nog een duidelijk remmende invloed merkbaar; pas bij 1 op 10.000.000, kan men geen invloed meer waarnemen.

STOVARSOL.

Stovarsol is een Fransch geneesmiddel en volgens den fabrikant is het acetyl-oxyaminophenyl-arseenzuur natrium. Het wordt verstrekt in comprimés van 250 milligram.

In de Bulletins de la Société de Phatologie Exotique van 14 Febr. 1923, deel XVI. p. 79 verscheen van de hand van Marchoux een verslag getiteld: „Le Stovarsol guérit rapidement l'Amibiase”.

Marchoux verhaalt hierin van 10 gevallen, waarbij hij uit de faeces van zijn patienten, niet alleen de amoeben, maar ook de cysten zag verdwijnen. Hij gaf z'n patienten $2 \times$ per dag 2 comprimés van 0.250 gram stovarsol. Cystendragers zag hij ook met deze therapie beter worden, ja zelfs de cysten van entamoeba-coli verdwenen ook. Op grond van deze goede resultaten, leek het mij bijzonder interessant dit geneesmiddel te gebruiken voor mijn proefnemingen. Stovarsol is alleen nagegaan volgens methode B en methode C.

Er werden agarplaten gemaakt met een gehalte aan stovarsol van resp. 1 op 200; 1 op 1000; 1 op 2000; 1 op 10.000; 1 op 20.000; 1 op 100.000 en 1 op 1.000.000.

Op deze platen werden de amoeben geënt.

Na 1×24 uur in de tropische kamer, werden de platen nagegaan, en daarbij bleek: **De controleplaten** waren voor de helft begroeid met amoeben en bacteriën, cysten kwamen niet voor.

Platen: 1 op 200 vertoonden geen levende amoeben of levende cysten, van bacteriën- of amoebengroei was niets te vinden. Meerdere doode cysten werden waargenomen.

Platen: 1 op 1000 vertoonden eenige levende amoeben, en meerdere levende cysten, de bacteriën waren weinig gegroeid, en van amoebengroei is geen sprake.

De platen **1 op 2000** verschilden alleen hier in van die van 1 op 1000, dat zij een sterke bacteriëngroei vertoonden.

De platen **1 op 10.000** vertoonden mooien amoebengroei,

doorgaans 3 à 4 c.M. vanaf de entplaats, de bacteriën waren door de amoeben medegenomen bij hun groei. Er werden nooit cysten waargenomen.

De platen **1 op 20.000**, vertoonden steeds tot op de helft van hun oppervlakte amoebengroei, juist, zooals de controleplaten; cysten werden niet waargenomen. De platen waren geheel begroeid met bacteriën.

De platen **1 op 100.000**, **1 op 1.000.000** en **1 op 50.000** gaven volkomen hetzelfde beeld als de controleplaten.

Na 2 × 24 uur was de toestand veranderd.

De platen met **1 op 200** stovarsol, waren niets veranderd sinds den vorigen dag.

Doch de platen **1 op 1000**, waarop den vorigen dag geen amoebengroei werd waargenomen, vertoonden nu geringen doch duidelijk werkbaren groei, de cysten waren niet in aantal toegenomen en er was bacteriëngroei aanwezig.

De platen **1 op 2000**, vertoonden 'n veel sterkeren amoebengroei dan de platen **1 op 1000**, de cysten, waren geheel verdwenen, tot op 3 c.M. vanaf de entplaats was de plaat dicht met amoeben begroeid.

Plaat **1 op 10.000**, den vorigen dag, nog maar tot op 3 c.M. vanaf de entplaats met amoeben begroeid, was nu geheel met amoeben bedekt, reeds kwamen er rondom de entplaats meerdere cysten voor.

De platen **1 op 20.000**; **1 op 100.000** en **1 op 1.000.000** alsook de **controleplaten** waren geheel met amoeben bedekt, terwijl er reeds meerdere cysten voorkwamen.

Na 3 × 24 uur bleek dat: op de platen **1 op 200** de toestand geheel gelijk was als na **1 × 24 uur**.

Op de platen **1 op 1000** was de groei sinds den vorigen dag vooruitgegaan, terwijl het aantal cysten was toegenomen.

De platen **1 op 2000** waren half begroeid met amoeben, en vertoonden meerdere cysten.

De platen **1 op 10.000**; **1 op 20.000**; **1 op 100.000**; en **1 op 1.000.000** vertoonden geheel hetzelfde beeld als de controleplaten. De meeste amoeben hadden zich geëncysteerd.

Na 4×24 uur was er geen vooruitgang van den groei meer te bespeuren op een der platen. Op alle platen hadden de amoeben zich voor het meerendeel, geëncysteerd.

Na 5×24 uur werden op geen der platen meer amoeben waargenomen, allen hadden zij zich geëncysteerd.

Methode C.

Er werden ook buizen gemaakt met een gehalte aan stovarsol **1 op 500**; **1 op 1000** en **1 op 5000**, die behandeld werden volgens de methode C.

In deze buizen werd **na 1×24 uur** waargenomen:

In de buizen **1 op 500** was geen amoebengroei aanwezig. In het condenswatermengsel waren geen levende amoeben of cysten te vinden. In de buizen **1 op 1000**, was evenmin amoebengroei aanwezig, wel werden er eenige levende amoeben en cysten in het condenswater aangetroffen.

In de buizen **1 op 2000** was een geringe amoebengroei aanwezig. Geen cysten.

In de buizen **1 op 5000** was een uitgebreide amoebengroei aanwezig, deze groei strekte zich uit tot op de helft van het agaroppervlak. Dit was ook, het geval in de controlebuizen.

Na 2×24 uur bleek dat:

In de buizen met **1 op 500** geen veranderingen opgetreden waren sinds **1×24 uur**.

In de buizen **1 op 1000** was een geringe amoebengroei ontstaan, ongeveer 2 c.M. boven den stand van het condenswater.

In de buizen: **1 op 2000** was de amoebengroei voortgegaan tot halfweg het agaroppervlak.

In de buizen: **1 op 5000** en eveneens in de controlebuizen bedekten de amoeben het agaroppervlak geheel.

Na 3×24 uur bleef de toestand vrijwel stationnair, uitgezonderd de buizen op 1 op 1000, waarin de groei nog iets was toegenomen en de buizen 1 op 2000, waarin de amoeben meestal het geheele agaroppervlak bedekten.

Doorgaans na 4×24 uur, en geregeld na 5×24 uur hadden zich alle amoeben geëncysteerd.

CONCLUSIE.

Uit bovenstaande onderzoeken blijkt, dat stovarsol in oplossing van 1 op 500 het vermogen bezit de amoeben blijvend te doden.

Oplossingen 1 op 1.000 kunnen de amoebengroei wel gedurende 1 dag tegen gaan, in een langer periode vertragen zij slechts den amoebengroei.

Dezen vertragenden invloed bezitten opl. van 1 op 2000 in geringe mate. Opl. boven 1 op 5000 blijken geen invloed meer op culturen van amoeben te hebben.



NEO-SALVARSAN.

Dit middel is zeker geen onbekende in de therapie. Het is tegen allerlei ziekten al gebruikt, dus het sprak vanzelf, dat men het ook tegen amoeben-dysenterie heeft geprobeerd. In het leerboek der Tropische Geneeskunde van de Lange en Lichtenstein, vermelden dezen goede resultaten vernomen te hebben van de narsenal- of neo-salvarsan- therapie (p. 267).

Zoo vermeldt Ruge in Carl Mense's Handbuch der Tropenkrankheiten Deel IV 1 1916 (p. 37): „Ook salvarsan is in 3 chronische gevallen, die 6 tot 10 jaar bestaan hadden met succes gegeven.”

Proeven met salvarsan, in den zin van dit proefschrift, zijn alleen genomen door Sellards en Leiva. Er schuilt een groote moeilijkheid bij het doen van experimenten met neo-salvarsan, in het feit, dat het zeer snel oxydeert en dat zich daardoor toxische stoffen gaan vormen. Sellards en Leiva meenden, dat deze toxische bestanddeelen, bij den mensch ingespoten, gevaarlijk zijn, doch, dat zij op de resultaten van deze soort van proefnemingen weinig invloed hebben. Zij hebben hun opl. met neo-salvarsan langdurig geschud, teneinde de oxydatie zoo sterk mogelijk te maken.

Zij namen geen verschillen waar in uitkomst tusschen opl. die niet geschud waren met die, die wel geschud waren. Zij vonden bij opl. van 1 op 500, schaars bacteriën, bij opl. 1 op 1000 talrijke bact. terwijl opl. van 1 op 5000 talrijke amoeben lieten zien.

EIGEN ONDERZOEK.

Methode B.

Neo-salvarsan is alleen maar toegepast volgens methode B. Het werd daartoe oplost in gedistilleerd water en zoo

in de agar voedingsbodems vermengd tot een getalte van 1 op 250; 1 op 500; 1 op 1000; 1 op 2500; 1 op 5000; 1 op 10.000; 1 op 25.000; en 1 op 50.000.

Na 1×24 uur bleek dat: op de platen met 1 op 250 absoluut geen amoebengroei waar te nemen was. Er waren geen levende amoeben of cysten te vinden.

Op de platen 1 op 500 werd hetzelfde waargenomen.

Op de platen 1 op 1000 waren levende amoeben aanwezig, er was eenige groei te bespeuren.

Op plaat 1 op 2500 werd een duidelijke amoebengroei waargenomen, levende cysten kwamen niet voor, zeer veel bacteriën.

De groei bleek nog duidelijk geremd ten opzichte van die op de controleplaten.

Op de platen 1 op 5000; 1 op 10.000; 1 op 25.000; en 1 op 50.000, was de groei der amoeben zóó sterk, dat er absoluut geen verschil te zien was met die op de controleplaten.

Na 2×24 uur, bleek de toestand op de platen 1 op 250 en 1 op 500 onveranderd te zijn gebleven.

De platen 1 op 1000 vertoonden een sterker amoebengroei dan den vorigen dag.

De platen met 1 op 2500 vertoonden een toename van groei, die echter steeds achter bleef bij die van 1 op 5000.

Na 3×24 uur en 4×24 uur, kwam er geen verschil in de onderlinge verhouding van den groei op de platen.

CONCLUSIE.

Op grond van het bovenstaande concludeer ik, dat neo-salvarsan in opl. van 1 op 500 de amoeben nog doodt, in opl. van 1 op 500 tot 1 op 2500 de amoeben ontwikkeling remt, doch, dat neo-salvarsan in verdunningen hooger dan 1 op 5000 geen invloed heeft op de amoeben-ontwikkeling.

Bespreking der verkregen resultaten.

1. Bij alle proefnemingen werden dezelfde voedingsbodem en dezelfde bacteriën gebruikt. De eerste vraag, dien we hebben te beantwoorden, luidt **of de groei der bacteriën onder invloed van de bij gemengde vergiften, zóódanig werd belemmerd, dat daardoor indirect de amoeben in hun ontwikkeling geschaad werden.** Zonder twijfel, wordt de groei der bacteriën door de sterkere concentraties der vergiften belemmerd, zoo was superol nog in staat in concentraties van 1 op 10.000 alle bacteriëngroei volkomen tegen te gaan. Doch uit mijne verslagen blijkt duidelijk, dat de hoogere verdunningen der gebruikte stoffen de bacteriën niet of heel weinig in hun groei belemmerden, terwijl de amoeben daarbij nog in sterke mate invloed ondervinden.

Bovendien is mij bij mijn onderzoekingen gebleken, dat het niet zoo zeer de **hoeveelheid** der bacteriën is, als wel de **soort**, die de amoeben tot krachtige woekering brengt. *Vibrio Dunbar* en *bac. Typhosus*, in ruime mate op de platen gebracht, gaven nooit een zóó dichten groei der amoeben als *bac. Coli*. Platen dicht met amoeben begroeid werden afgespoeld met Physiologische NaCl oplossing, nadat de amoeben met een Drigalsky spatel waren losgemaakt van hun voedingsbodem. Hierna werd deze suspensie zeer voorzichtig gecentrifugeerd, waardoor een hoeveelheid amoeben werd verkregen met een zeer geringe bacterie bijmenging. Deze amoeben werden gebracht in een buisje met Liebig-Bouillon, daarin encysteerden zij zich niets eerder en zij gedroegen zich precies als de andere amoeben op de platen, in een tijdsverloop van 4×24 uur.

De verkregen resultaten mogen daarom worden geweten aan den invloed van de vergiften op de amoeben zelf.

2. Bij de beoordeeling van den invloed, die de onderzochte vergiften uitoefenen moeten twee zaken uiteen worden gehouden.

1e. de onmiddellijk doodende werking.

2e. de belemmering van den groei.

Het duidelijkste komt dit verschil bij emetine te voorschijn. Bij het nagaan der terstond doodende werking van het emetine valt op, dat zelfs zeer sterke concentraties een betrekkelijk langen tijd behoeven om de amoeben te doden. Wenyon en 'O Connor vinden, dat zelfs een 6½ % oplossing nog gedurende eenige minuten moest inwerken, om de amoeben te doden. Een concentratie van 1/200 werkt eerst na minstens één uur. In de hoogere verdunningen kon ik na één of twee maal 24 uur nog levende amoeben en cysten aantoonen, doch, de invloed van het emetine bleek daarbij met zekerheid door de volkomen verhindering van elke woekering. Bij verdunningen van 1 op 100.000 was deze remming nog volkomen, al bleven daarbij de cysten soms dagenlang nog in leven. Bij 1 op 200.000 was deze remming niet meer volkomen, daar daarbij wel vermeerdering optrad, doch deze woekering bleef steeds duidelijk achter bij die op de controleplaten; een doodende werking was daarbij niet vast te stellen.

Men mag dus de werking van de alkaloïden op amoeben niet bepalen door gedurende korten tijd (enkele uren) het gedrag der amoeben na te gaan onder het mikroskoop. Men moet daarentegen de langen tijd durende kweekproeven tot hulpmiddel nemen, omdat dan eerst, de juiste giftige invloed is vast te stellen.

In de hieronder staande tabel zijn de resultaten met de verschillende stoffen door mij verkregen samengevat.

Invloed der geneesmiddelen op de amoeben-groei

Onderzocht middel	Groei absoluut uitgesloten	Groei alleen geremd	Geen invloed meer merkbaar
Emetine	1 op 100.000	1 op 200.000	1 op 400.000 of lager
Cephaeline	1 op 100.000?	niet betrouwbare resultaten	
Psychotr.	1 op 2000	1 op 4000	1 op 8000
Kinine	1 op 4000	1 op 6000	1 op 10.000 of iets lager
Papaverine	1 op 500	1 op 5000	1 op 10.000 of iets lager
Yatreen	1 op 250	1 op 500	1 op 750 of lager
Stovarsol	1 op 500	1 op 2000	1 op 5000 of lager
Superol	1 op 10.000	1 op 1.000.000	1 op 10.000.000 of lager
Neo Salv.	1 op 500	1 op 2500	1 op 5000 of lager

Wij willen eerst de alkaloïeden en hun werking bespreken.

3. 't Allereerst valt de bijzondere plaats op, welke het emetine tegenover de andere alkaloïeden in dezen inneemt. Ook bij de andere alkaloïeden bestaat een duidelijk verschil tusschen volkomen en gedeeltelijke remming, doch zij blijven in hun werking zóó sterk bij het emetine achter, dat men van een specifieke werking van het emetine tegenover wilde amoeben mag spreken.

Het cephaeline volgt waarschijnlijk het emetine doch werd door mij niet nauwkeurig onderzocht, daar het een duidelijke reactie met mijn voedingsbodem vertoonde, die troebel werd, om welke reden ik de resultaten minder betrouwbaar achtte.

Merkwaardigerwijze mist het aan het emetine naverwante psychotrine de specifieke werking.

Bij de andere onderzoekers vinden wij hetzelfde terug. Emetine en cephaeline (volgens Brown ook het door mij niet onderzochte connessine) nemen een specifieke plaats in tegenover de andere alkaloïeden.

Kinine blijft ook bij Brown en Sellards en Leiva ver achter.

Psychotrine blijkt in de handen van alle onderzoekers slechts een zwakke werking te ontvouwen evenals het papaverine.

Quantitatief, stemmen de resultaten minder nauwkeurig overeen. Dat was ook nauwelijks te verwachten, daar zowel de gebruikte amoebenstam als de voedingsbodem en de tot voedseldienende bacteriën bij de verschillende onderzoekers niet overeenstemden.

Toch naderen de opgaven van verschillende onderzoekers de door mij gevonden getallen, zoo vindt Vedder absolute remming bij 1 op 100.000; Pyman en Wenyon bij een oplossing van emetine 1 op 100.000 een vertraagden groei, terwijl Walters Baker en Koch bij oplossingen van 1 op 200.000, die 1—7 uren inwerkten wel vele amoeben zagen sterven en meerderen dezen invloed overleven Slechts Sellards en Leiva vonden bij al hun onderzoekingen een invloed bij veel hooger verdunningen. Doch ook hun methode wijkt belangrijk af. Zij gebruikten een voedingsbodem van geheel andere samenstelling. (KCl in plaats van NaCl en lactose inplaats van Liebig's vleesch-extract) en plaatsten hun proeven bij 37 gr. in plaats van 25 gr.

Bovendien gebruikten zij een vloeibaren voedingsbodem. Amoeben vermenigvuldigen zich in een vloeibaren voedingsbodem zeer sterk, indien de omstandigheden gunstig zijn, alleen is de **snelheid** van groei daarop moeilijker vast te stellen, dan op vaste voedingsbodems. Ook bij hun proeven, die enkele dagen duurden, moet de **groefactor** de belangrijkste rol gespeeld hebben. Bijzondere, daarop ingerichte, proeven zouden noodig zijn om vast te stellen aan welken oorzaak (temperatuur, samenstelling en aard van den voedingsbodem, aard van de gebruikte amoeben en bacteriën) de zeer gunstige uitkomsten van hunne proeven moeten worden toegeschreven.

Onderzoekingen dienaangaande werden door mij niet ingesteld.

4. Geeft het op wilde amoeben verkregen resultaat eenig licht omtrent de vraag hoe de werking van het emetine in de kliniek moet worden verklaard?

Wij zagen, dat Dale en Dobell, zoo ook Allan een onmiddellijke werking van het emetine op de histolytica amoeben bij Amoebiasis ontkenden, **ten eerste** op grond van hun proeven in vitro omtrent de onmiddellijk doodelijke werking van emetine op histolytica amoeben — welke invloed huns inziens te gering bleek.

Dit argument verliest zijn bewijskracht, nu bij wilde amoeben is aangetoond, dat eerst de langere duur van inwerking en de remmende invloed op den groei, de specifieke werking van het emetine op het amoebenlichaam aan het licht brengen.

Bij de proeven op histolytica amoeben kunnen deze hoofdfactoren niet worden nagegaan. De uit het weefsel gerukte histolytica-vormen blijven slechts korten tijd in leven en zijn buiten het weefsel niet in staat tot deelen en woekeren.

Het is dus zelfs onmogelijk in vitro den invloed van emetine op de histolytica op juiste wijze te onderzoeken.

Hun tweede argument was, dat er geen parallelisme bestond tusschen de inwerking van de verschillende alkaloïeden op de histolytica in vitro en hun therapeutische werking in de kliniek. Kinine en psychotrine bleken toch in vitro minstens even krachtig werkzaam als emetine. Ook dit argument komt te vervallen daar hierbij slechts de werking binnen korten tijd is nagegaan.

Integendeel onze onderzoekingen wijzen op een volkomen parallelisme tusschen de werking der onderzochte alkaloïeden op wilde amoeben en hun therapeutisch effect in de kliniek.

Het emetine doet zich, zoowel bij culturen van amoeben als bij amoebiasis van den mensch als een specificum gelden.

Het spreekt vanzelf, dat hiermede het vraagstuk omtrent de wijze, waarop emetine bij amoebiasis werkt **niet** is opgelost. Doch wel meen ik tot de slotsom te mogen komen, **dat een onmiddellijke werking van emetine in de verdunning, waarin het bij den mensch na subcutane injecties voorkomt, nog niet mag worden ontkend; integendeel meer waarschijnlijk is geworden**, doordat is vastgesteld, dat het emetine tot in **zeer hooge verdunningen** in staat is den groei der wilde amoeben te remmen — dus hen te schaden. —

5. Nemen wij nu de overige, door mij onderzochte, stoffen in beschouwing.

Het **Yatreen**, dat in de kliniek zoo schitterend werkt, blijkt bij mijne proeven de zwakste werking van alle onderzochte middelen te bezitten.

Ook indien men in aanmerking neemt, dat het **Yatreen** in de kliniek in een 50 tot 100 maal grootere dosis wordt gegeven dan het emetine, moet men tot de slotsom komen, dat de door mij genomen proeven op wilde amoeben **geen** verklaring geven van de zoo krachtig therapeutische werking van het **Yatreen**.

Van **Stovarsol** en **Salvarsan** valt hetzelfde te zeggen als van **Yatreen**.

6. Een zeer onverwacht resultaat gaven mij de proeven met **Superol** genomen.

Voor zoover mij bekend, is **Superol** nog nimmer tegen Amoebiasis aangewend. Daar het als desinfectans krachtig werd aanbevolen, besloot ik het in mijn proevenreeks op te nemen. Het overtrof in zijne werking op de culturen van wilde amoeben verre alle andere onderzochte middelen.

Hiermede is allerminst aangetoond, dat **Superol** een therapeutische werking tegenover amoebiasis zal bezitten. Doch gedachtig aan het historische feit, dat de invoering van het emetine in de therapie der amoebiasis te danken is aan de proeven, door Vedder op wilde amoeben genomen, zou het misschien aanbeveling verdienen, ook **aan het Superol een kans te geven**.

